Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

Organizacion CSA Ltda.

CSA054152

Delegatura de Propiedad Industrial
División de Nuevas Creaciones

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
INVENTARIO

PCT

SOLICITUD

PATENTE DE INVENCIÓN

21. **EXPEDIENTE No.** 09-127786

54. **TÍTULO** ANALOGOS DE AMIDAS HETEROARILICAS COMO ANTAGONISTAS DEL P2X

51. **CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL**

71. **SOLICITANTE** H. LUNDBECK A/S

DOMICILIO COPENHAGEN, DINAMARCA

74. **APODERADO** LUZ CLEMENCIA DE PAEZ
C.C. 35.456.344 de Usaquén

22. **BOGOTÁ, D.C.,**

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

PETITORIO

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 09-127786- -00000-0000
Fecha 2009-11-10 16 57 54 Dep. 2020 NUECREACIONI
Tra 11 PATENTEIYII Eve 378 FASENACIONALI
Act 411 PRESENTACION Folios 347

FORMULARIO UNICO DE SOLICITUD DE PATENTE PCT ENTRADA EN FASE NACIONAL

1 SOLICITUD DE:

☒ Patente de Invención. ☐ Patente de Modelo de Utilidad.
☒ Capítulo I. ☐ Capítulo II.

2 SOLICITANTE (71)

Nombre: **H. LUNDBECK A/S**
Sociedad constituida y existente bajo las leyes de Dinamarca.

Dirección: 9, Ottiliavej,
DK-2500,
Copenhagen,
Dinamarca

Domicilio: Copenhagen,
Dinamarca

IDENTIFICACIÓN
C.C. ☐ NIT ☐
C.E. ☐ Otro ☐
Cual _____
Número _____

3 REPRESENTANTE O APODERADO

Nombre: LUZ CLEMENCIA DE PAEZ
Dirección: Carrera 4ª. No. 72-35
Teléfono: 347 36 11
Fax: 211 86 50
E-mail: clientes@cavelier com
Domicilio: Bogotá, Colombia.

IDENTIFICACIÓN
C.C. ☒ NIT ☐
C.E. ☐ Otro ☐
Cual _____
Número 35.456.344 T.P 23.555

4 INVENTOR (ES) (72)

1. **David C. IHLE**
242 Greens, Farm Road,
Branford,
Connecticut 06405,
Estados Unidos de América

2. **Qin GUO**
18 Maple Terrace
Waterford,
Connecticut 06385,
Estados Unidos de América

3. **Kevin HODGETTS**
224 Reservoir Road,
Killingworth,
Connecticut 06419,
Estados Unidos de América

4. **Jun YUAN**
40 Spruce Hill Drive,
Guilford,
Connecticut 06437,
Estados Unidos de América

5 PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/US2008/004563 Fecha: 09 de abril de 2008
Publicación Internacional No. WO 2008/124153 Fecha: 16 de octubre de 2008

6 Título (54)

ANÁLOGOS DE AMIDAS HETEROARÍLICAS COMO ANTAGONISTAS DEL $P2X_7$

7 Clasificación Internacional (51) C07D 471/004 A61P 29/00 A61P 25/00 A61K 31/437

8 Prioridad SI ☒ NO ☐

(33) País de Origen	(32) Fecha	(31) Número de Solicitud
US	10 de abril de 2007	60/910,864

9

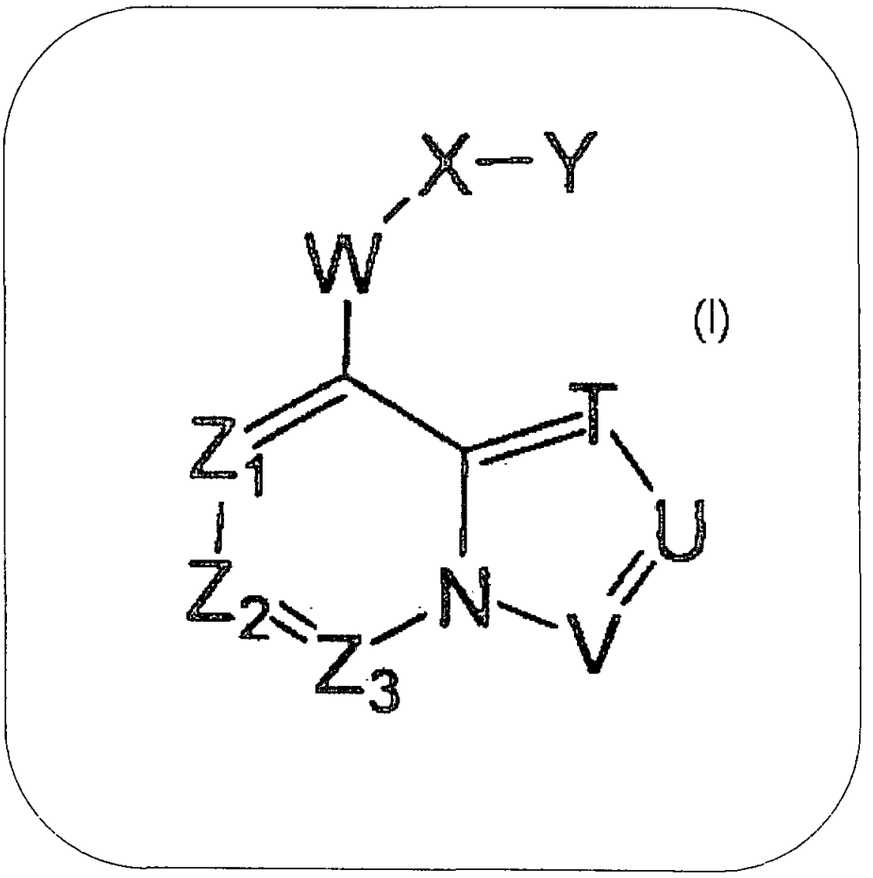
Comprobante de pago No.: 09-72,651 **Fecha:** 28 de septiembre de 2009
Comprobante de pago No.: 09-72,652 **Fecha:** 28 de septiembre de 2009
Comprobante de pago No.: 09-75,152 **Fecha:** 05 de octubre de 2009
Comprobante de pago No.: 09-77,160 **Fecha:** 13 de octubre de 2009
Comprobante de pago No.: 09-80,188 **Fecha:** 26 de octubre de 2009

10

Anexos:

- [x] Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud por $ 540.000.oo.
- [x] Comprobante de pago por 37 reivindicaciones adicionales después de la decimoquinta reivindicación por $925.000.oo.
- [x] Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.
- [x] Poderes, si fuere el caso.
- [ ] Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.
- [ ] Declaraciones.
- [x] Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- [x] Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- [ ] Copia del examen preliminar efectuado por la IPEA.
- [ ] Traducción del examen preliminar efectuado por la IPEA.
- [ ] De ser el caso, copia del contrato de acceso.
- [ ] De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.
- [ ] De ser el caso, certificado de depósito del material biológico.
- [x] Arte final 12x12
- [ ] De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- [x] Otros: VER HOJA DE DOCUMENTOS ANEXOS

(11) **FIGURA CARACTERÍSTICA**



(12) Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: LUZ CLEMENCIA DE PAEZ

FIRMA : Luz Clemencia De Páez

C.C. 35.456.344 de Usaquén T.P. 23.555

SCT

DOCUMENTOS ANEXOS

1. ☒ Publicación Internacional WO 2008/124153 A1

   Descripción:

   Páginas 108 en el idioma original

   Páginas 160 en español

   Reivindicaciones: Número (s) 52

   Figuras: Número (s)

2. ☒ **Forma PCT/ISA/210.** Informe de Búsqueda Internacional.

3. ☒ **Forma PCT/IB/306.** Notificación de la inscripción del cambio de nombre del solicitante **NEUROGEN CORPORATION** a **H. LUNDBECK A/S**

4. ☒ Extracto de publicación.

NO SE REALIZARON MODIFICACIONES EN LA FASE INTERNACIONAL

For patents, utility models, industrial designs, trademarks, commercial names, trade emblems, slogans.

Para patentes, modelos de utilidad, diseños industriales, marcas de fábrica, nombres comerciales, enseñas, lemas comerciales.

PRESENTACION Y PODER

REPRESENTATION AND POWER OF ATTORNEY

03003
06049

I (we), the undersigned/Yo (nosotros), abajo firmado (s)

H. LUNDBECK A/S

of/domiciliado (s) en 9, Ottiliavej, DK-2500, Copenhagen, DENMARK

el presente nombramos a GERMAN CAVELIER, tpa. 832; IZALO PERDOMO, tpa. 831; EMILIO FERRERO, tpa.); y LUZ CLEMENCIA DE PAEZ, tpa. 23555; domiciliados Carrera 4ª Nº 72-35, Bogotá, Colombia, en obedecimiento a spuesto en el parágrafo 1º del Artículo 543 del Código de ercio, el primero como principal y los demás como entes, en su orden, como mis (nuestros) representantes en s los asuntos de propiedad industrial con facultad para ir notificaciones y nombrar apoderados judiciales o judiciales. El primer representante suplente reemplazará al cipal en caso de ausencia o impedimento temporal o itivo de aquél. La misma regla se aplicará cuando el ndo representante suplente haya de reemplazar al primero, tercero al segundo. En tales casos, el representante cipal, o el primero, o segundo suplente, en su caso, o ambos, irarán su intención de no ejercer la representación iante declaración autenticada por Notario Público en mbia, o por Notario u otro Funcionario Público, o Cónsul olombia, en el extranjero; y si se tratare de impedimento, el certificado respectivo. Si alguno de los nombrados faltare itivamente, el siguiente tomará su lugar. Cuando cesare la ncia o impedimento del representante principal, o de su ero o segundo suplentes, en su caso, podrán ejercer la esentación, en su orden, uno u otros según el caso, niéndola por el solo hecho de ejercerla, cesando en ese iento el ejercicio de la representación por el primero, ndo o tercer suplente en su caso.

nás, confiero (conferimos) poder a los abogados arriba brados, para obtener la protección de mi (nuestra) iedad industrial y contra la competencia desleal, a cuyo o autorizo (amos) a los dichos apoderados para que me representen ante cualesquiera entidades o personas, an o no jurisdicción, especialmente ante las del orden inistrativo, contencioso-administrativo y judicial, así como ribunales de arbitramento, en todo lo concerniente a los entes asuntos: a) Obtención de patentes de invención, elos de utilidad, y diseños industriales; el registro de as de fábrica, colectivas, defensivas, de servicio, lemas rciales, nombres comerciales, enseñas, variedades tales y denominaciones de origen; su renovación, traspaso, bio de nombre o domicilio, cancelación voluntaria; y el tro de licencias de uso de esos derechos; b) Las acciones de petencia desleal, protección del consumidor, oposiciones u rvaciones, cancelación administrativa y judicial, nulidad, idas cautelares, concesión de licencias, la tutela, la cción de secretos industriales, y en general los juicios es, penales, administrativos o contencioso-administrativos ionados con estos derechos; acciones y procesos que novamos o se nos promuevan. Y para que en todos los tos arriba determinados, puedan sustituir este mandato, igir, conciliar, admitir los hechos del proceso, desistir, elar, recibir, renunciar, y ratificar los actos de agentes osos.

in due compliance with the terms of paragraph 1st. of article 543 of the Commercial Code, do hereby appoint GERMAN CAVELIER, tpa. 832; GONZALO PERDOMO, tpa. 831; EMILIO FERRERO, tpa. 31929; and LUZ CLEMENCIA DE PAEZ, tpa. 23555; domiciled at Carrera 4ª Nº 72-35, Bogotá, Colombia, the first as principal and the others as alternates, in the order of their appointment, as our representatives for all industrial property matters with faculty to receive notifications and to appoint attorneys in and out of Court. The first alternate shall replace the principal in case of his absence or of temporal or definitive impediment. The same rule will apply when the second alternate representative is to replace the first one, or when the third is to replace the first or second alternates in their turn, or both of them, second. In such cases, the principal representative, or the first or second alternates in their turn, or both of them, shall state their intention not to act as representatives through a declaration given before a Notary Public in Colombia, or before a Notary or another Public Official or a Colombian Consul abroad; and in case of impediment, the appropriate certificate shall suffice. If any of the appointees were to be definitely absent, the following alternate shall take his place. When the absence or impediment of the principal representative, or of the first or second alternate in their turn ceases, the representation can be taken again in their sequence, by the principal, the first or second alternate depending on case, and the mere fact or its exercise will suffice. The exercise of the representation by the first, second or third alternates in their turn shall end at such time.

In addition, we grant a Power of Attorney in favor of the above-named attorneys-at-law so that they may obtain the protection of my (our) industrial property and against the unfair competition, for which purpose I (we) authorize the said attorneys to represent me (us) before any authorities or persons, with or without jurisdiction, specially those administrative, administrative contentious and judicial, as well as before Arbitration Court, in all matters concerning the following: a) Obtainment of patents; utility models and industrial designs; the registration of trademarks; collective, defensive and service marks, slogans, commercial names, trade emblems, vegetal varieties and denominations of origin; its renewal, assignment, change of name or domicile, voluntary cancellation; and the registration of licenses of use of the above rights; b) Actions of unfair competition, protection to the consumer, oppositions or observations, administrative or Court cancellation, nullity, infringement, granting of licenses; the action for writ mandamus, the protection of trade secrets, and in general the civil, penal, and administrative suits relating to those rights; actions and suits instituted by me (us) or against me (us). And that in all the above matters they may substitute this Power of Attorney, compromise, conciliate, admit the facts of the case, desist, cancel, receive, renounce, and ratify the acts done by representatives.

COMO NOTARIA SEXTA DEL CIRCULO DE BOGOTA D.C. DAGO CONSTAR QUE LA FOTOCOPIA COINCIDE CON EL ORIGINAL QUE HE TENIDO A LA VISTA
BOGOTA D.C. REPUBLICA DE COLOMBIA
04 NOV. 2009
AMPARO QUINTERO ARTURO
NOTARIA

Given and signed this/Dado y firmado hoy

11 June 1998

in/en Copenhagen

H. Lundbeck A/S

Signature — Firma

John Meidahl Petersen
Patent Department

CAVELIER ABOGADOS
PODERE-1 (MINUTA Nº 12.1.1.2.5)

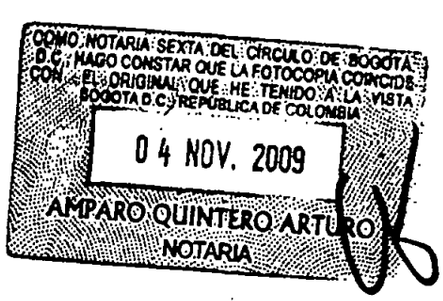
164033 06 0001.2101 12.06.98 RA
60100-02364/98 200.00 K

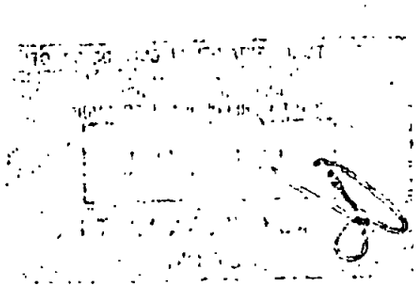
LIZACION

ior Cónsul de Colombia debe expedir un *certificado ar* sobre (1) la existencia legal de la compañía que otorga ler, (2) que ésta ejerce su objeto social, y (3) que las las que otorgan el poder están autorizadas para darlo. A fecto les solicitamos que muestren al Señor Cónsul las as que acreditan esos hechos (1), (2) y (3).

LEGALIZATION

The Colombia Consul must issue a *consular certificate*, on (1) the legal existence of the company which grants the Power-of-Attorney, (2) that it is in actual exercise of its company purposes, and (3) that the persons who execute the Power of Attorney is autorized to do so. To this effect, please show the Consul the evidence to prove the above facts (1), (2) and (3).





A PARA EL SEÑOR CONSUL DE COLOMBIA: Según los artículos 65 del C. de P.C. y 480 del C. de Co., poderdante es una sociedad, el Señor Cónsul debe certificar que tuvo a la vista las pruebas de su encia, que ejerce su objeto social y que quien confiere el poder es su representante.

La suscrita Ilse Greby, notario público de Copenhague, Dinamarca, certifica que el señor

John Meidahl Petersen,

que en la fecha de hoy ha firmado ante mí el presente documento, está autorizado, según documentos justificativos que juzgo suficientes, para usar la firma de la sociedad denominada

H. LUNBECK A/S,

domiciliada en 9, Ottiliavej, DK-2500 Copenhague, Dinamarca, y que legalmente existe y actualmente ejerce su objeto social de acuerdo con las leyes del Dinamarca.

En fé de lo cual pongo mi firma y el sello notarial.

Notaría de Copenhague, a 11 de Junio de 1998.

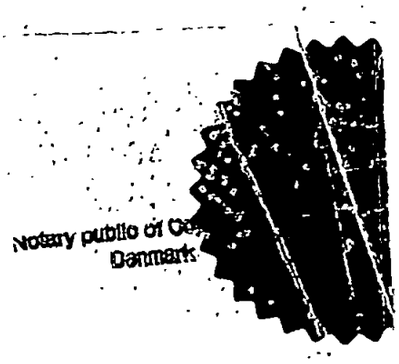
Ilse Greby
notario público

Derechos: 200,- DKK.

MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES

SE LEGALIZA LA FIRMA QUE ANTECEDE DE
ILSE GREBY
COPENHAGUE, EL 10 JUNI 1998
POR EL MINISTRO DE RELACIONES EXTERIORES
P. A.

COMO NOTARIA SEXTA DEL CIRCULO DE BOGOTA D.C. HAGO CONSTAR QUE LA FOTOCOPIA COINCIDE CON EL ORIGINAL QUE HE TENIDO A LA VISTA
BOGOTA D.C. REPUBLICA DE COLOMBIA
04 NOV. 2009
ALVARO QUINTERO ARTURO
NOTARIA



COMO NOTARIA SEXTA DEL CIRCULO DE BOGOTA D.C. HAGO CONSTAR QUE LA FOTOCOPIA COINCIDE CON EL ORIGINAL QUE HE TENIDO A LA VISTA
BOGOTA D.C. REPUBLICA DE COLOMBIA

04 NOV. 2009

AMPARO QUINTERO ARTURO
NOTARIA

VERVS- OG SELSKABSSTYRELSEN
ERVSMINISTERIET

7

The Danish Commerce and Companies Agency
certifies and attests that

"H. LUNDBECK A/S"
Ottiliavej 7-9
DK-2500 Valby
Denmark

the municipality of Copenhagen
ich company was established 14th October 1950
der registration number A/S 22.472
the Danish Commerce and Companies Agency incorporated with
nited liability, is legally existing as a Danish Public
mpany, limited by shares, and duly registered and incor-
rated under the provisions of the Company Legislation of the
ngdom of Denmark.

Copenhagen, 11th May 1998

Pia Sødequist

THE TRUE COPY OF
PIA SØDEQUIST
18 MAI 1998
FOREIGN AFFAIRS.
INGRID BIGAART

MANNSGADE 1 1780 KØBENHAVN V TELEFON 33 30 77 00 EKSPEDITIONSTID 10 00 - 15 00

COMO NOTARIA SEXTA DEL CIRCULO DE BOGOTA D.C., HAGO CONSTAR QUE LA FOTOCOPIA COINCIDE CON EL ORIGINAL QUE HE TENIDO A LA VISTA
BOGOTA D.C., REPUBLICA DE COLOMBIA
04 NOV. 2009
AMPARO QUINTERO ARTURO
NOTARIA

8.

C O N S U L A D O D E C O L O M B I A

No 33-98

El suscrito, Cónsul de Colombia en Copenhague, Dinamarca, vistos los documentos presentados por los interesados,

C E R T I F I C A :

Que la Sra. Inger Elgaard quien autoriza el documento adjunto, ejercía legalmente, en la fecha allí expresada, sus funciones como Funcionario del Ministerio de Relaciones Exteriores de Dinamarca, y que su firma y sellos corresponden a los registrados en este Consulado.

Que la firma H. LUNDBECK A/S. existe legalmente, que ejerce su objeto social de acuerdo a las leyes danesas y que el Sr. John Meidahl Petersen está autorizado para firmar el documento, de cuerdo al Resumen expedido por la Dirección de Industrias y Comercio Nr. A/S 22472, cuya copia se adjunta.

El suscrito Cónsul de Colombia no asume responsabilidad por el contenido del documento.

"Se pagarán en Colombia los impuestos de Timbre que se ocasionen al ejecutar en Colombia las obligaciones emanadas del presente documento de conformidad con el artículo 519 del Estatuto tributario."

Copenhague, Junio 23 de 1.998.

CARLOS ARTURO MORALES
Cónsul de Colombia

CONSULADO DE COLOMBIA
COPENHAGUE

Pagado : Impuesto Timbre USD. 6.oo
Derechos Consulares USD: 100.oo

COMO NOTARIA SEXTA DEL CIRCULO DE BOGOTA D.C. HAGO CONSTAR QUE LA FOTOCOPIA COINCIDE CON EL ORIGINAL QUE HE TENIDO A LA VISTA
BOGOTA D.C. REPUBLICA DE COLOMBIA
04 NOV. 2009
AMPARO QUINTERO ARTURO
NOTARIA

MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES

C51248

NO SE ASUME RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

98 JUL -1 PM 4:40

JEFE DE LEGALIZACIONES
SANTAFE DE BOGOTA D.C.

CUMPLIMIENTO DE LA LEY
DOCUMENTO DESENTRAÑA
LAS FUNCIONES

COMO NOTARIA SEXTA DEL CIRCULO DE BOGOTA D.C. HAGO CONSTAR QUE LA FOTOCOPIA CONCUERDA CON EL ORIGINAL QUE HE TENIDO A LA VISTA
BOGOTA D.C., REPUBLICA DE COLOMBIA

04 NOV. 2009

AMPARO QUINTERO ARTURO
NOTARIA

TRADUCCIÓN OFICIAL N° 0807981 al español de un documento escrito en inglés, preparada por Jaime Armando Garavito Burgos, Traductor Oficial debidamente reconocido por el Ministerio de Relaciones Exteriores y aprobado por el Ministerio de Justicia de la República de Colombia mediante Resolución N° 034 de enero 11 de 1983

(En la parte superior central de las tres primeras páginas aparece sello redondo en relieve de la Embajada de Colombia en Copenhague, Dinamarca)

(Adherido en la esquina superior izquierda de las dos primeras hojas del documento aparece sello rojo de oblea, junto con sello en tinta del Notario Público de Copenhague, Dinamarca)

Documento escrito en inglés y español por medio del cual **H. LUNDBECK A/S**, otorga poder a favor de **GERMÁN CAVELIER, GONZALO PERDOMO, EMILIO FERRERO y LUZ CLEMENCIA DE PÁEZ**. Dado y firmado el 11 de junio de 1998 en Copenhague, Dinamarca. (firmado) John Meidahl Petersen, Departamento de Patentes

---

CERTIFICACIÓN NOTARIAL (SOCIEDAD) en español referente a la existencia legal de la sociedad **H. LUNDBECK A/S** y al representante autorizado **John Meidahn Petersen**, expedido el 11 de junio de 1998 en Copenhague, Dinamarca. (firmado) Ilse Greby, Notario Público (Aparece adherido sello notarial rojo

COMO NOTARIA SEXTA DEL CIRCULO DE BOGOTA D.C. HAGO CONSTAR QUE LA FOTOCOPIA COINCIDE CON EL ORIGINAL QUE HE TENIDO A LA VISTA
BOGOTA D.C. REPUBLICA DE COLOMBIA
04 NOV. 2009
ALVARO QUINTERO ARTURO
NOTARIA

El Ministerio de Relaciones Exteriores en Copenhague, Dinamarca legaliza la firma de Ilse Greby, Notario Público el 19 de junio de 1998. (firmado) INGER ELGAARD

ERHVERVS- OG SELSKABSSTYRELSEN (Aparece un símbolo)
ERHVERVSMINISTERIET

La Agencia Danesa de comercio y Compañías certifica y

atestigua que

"H. LUNDBECK A/S"
Ottiliavej 7-9
DK-2500 Valby
Dinamarca

del municipio de Copenhague, compañía que fue establecida el 14 de octubre de 1950 bajo el número de registro A/S 22.472 en la Agencia Danesa de Comercio y de Compañías constituida con responsabilidad limitada, existe legalmente como una Compañía Pública Danesa, limitada por acciones y debidamente registrada y constituida bajo las disposiciones de la Legislación de Compañías del Reino de Dinamarca.

(Aparece copia de sello de oblea)

COMO NOTARIA SEXTA DEL CIRCULO DE BOGOTA D.C., HAGO CONSTAR QUE LA FOTOCOPIA COINCIDE CON EL ORIGINAL QUE HE TENIDO A LA VISTA
BOGOTA D.C. REPUBLICA DE COLOMBIA
04 NOV. 2009
AMPARO QUINTERO ARTURO
NOTARIA

Copenhague, mayo 11, 1998
(firmado)
Pia Sødequist

EL MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES EN COPENHAGUE, DINAMARCA CERTIFICA LA FIRMA DE PIA SØDEQUIST el 14 de mayo de 1998. (firmado) INGER ELGAARD

N° 33-98. EL CONSULADO GENERAL DE COLOMBIA en Copenhague, Dinamarca, certifica las funciones y firma de Inger Elgaard, el 23 de junio de 1988. Pagado impuesto de timbre y derechos

consulares. (firmado) CARLOS ARTURO MORALES, Cónsul de Colombia

---

EL MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES en Santafé de Bogotá, D.C. certifica la firma y las funciones de Carlos Morales, el 1 de julio de 1998. **N° 051248.** (firmado) Jefe de Legalizaciones.

Es traducción fiel y completa de la cual se deja copia en los archivos de esta oficina para su confrontación y a la cual me remito.

Santafé de Bogotá, D.C., julio 8 de 1998

COLO: 3003-801-001-0
WPCL3003- ID # 19

NO SE ASUME RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

98 JUL 14 PM 12:18

JEFE DE LEGALIZACIONES SANTAFE DE BOGOTA D.C.

MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES

054833

SU VA FIRMA APARECE EN EL DOCUMENTO DESEMPEÑA LAS FUNCIONES INDICADAS

JAIME A. GARAVITO B
TRADUCTOR E INTERPRETE OFICIAL
Res 034 de Enero 11 de 1983
MINISTERIO DE JUSTICIA

COMO NOTARIA SEXTA DEL CIRCULO DE BOGOTA D.C. HAGO CONSTAR QUE LA FOTOCOPIA COINCIDE CON EL ORIGINAL QUE HE TENIDO A LA VISTA
BOGOTA D.C. REPUBLICA DE COLOMBIA
04 NOV. 2009
AMPARO QUINTERO ARTURO
NOTARIA

COMO NOTARIA SEXTA DEL CIRCULO DE SANTAFE DE BOGOTA, HAGO CONSTAR QUE LA(S) FIRMA(S) DE:

Paul A Gorante

CORRESPONDE(N) CON LA FIRMA REGISTRADA POR EL (LOS) EN ESTA NOTARIA.

SANTAFE DE BOGOTA, 14 JUL. 1998

REPUBLICA DE COLOMBIA

COMO NOTARIA SEXTA DEL CIRCULO DE BOGOTA, D.C., HAGO CONSTAR QUE LA FOTOCOPIA COINCIDE CON EL ORIGINAL QUE HE TENIDO A LA VISTA

BOGOTA D.C. REPUBLICA DE COLOMBIA

04 NOV. 2009

AMPARO QUINTERO ARTURO

NOTARIA

12

CAVELIER
ABOGADOS

EDIFICIO SISKI
CARRERA 4 No. 72 - 35
BOGOTA 8, COLOMBIA

WEB SITE: www.cavelier-abogados.com
E-MAIL: cavelier@colomsat.net.co

TELEFONO: (57) (1) 347-3611
TELEFAX: (57) (1) 217-9211 (57) (1) 310-4995

Señor Jefe de la
DIVISION DE NUEVAS CREACIONES
Superintendencia de Industria y Comercio
E. S. D.

Poderdante: H.LUNDBECK A/S

Poder conferido el: 11-06-98

Yo, GERMAN CAVELIER, obrando en mi calidad de apoderado principal del poderdante arriba mencionado, atentamente manifiesto a Usted que sustituyo el poder que me ha sido conferido en la persona del doctor EMILIO FERRERO, Abogado con Tarjeta Profesional No. 31.929, con todas las facultades que me fueron conferidas.

Hago la anterior sustitución conforme al artículo 66 del Código de Procedimiento Civil ya que los otros sustitutos faltan en este momento.

Señor Jefe,

GERMAN CAVELIER
T.P.A. No. 832
C.C. No. 2.877.924 de Bogotá

Acepto:

EMILIO FERRERO
T.P.A. Nº 31.929
C.C. No. 438.019 de Usaquén

COMO NOTARIA SEXTA DEL CIRCULO DE BOGOTA D.C. HAGO CONSTAR QUE LA FOTOCOPIA COINCIDE CON EL ORIGINAL QUE HE TENIDO A LA VISTA
BOGOTA D.C. REPUBLICA DE COLOMBIA
04 NOV. 2009
AMPARO QUINTERO ARTURO
NOTARIA

2e-780-2

NOTARIA SEXTA DE BOGOTA

RECONOCIMIENTO Y PRESENTACION PERSONAL

Bogotá,,D. C. 14 AGO. 1998

Ante Mí, PABLO MENDEZ BARAJAS S.

NOTARIO SEXTO [illegible] DEL CIRCULO DE BOGOTA

Compareció(eron)

[illegible]

[illegible] 2897424

[illegible] 438019

[illegible] Firma(s) 832 — 31429

identificado(s) en Bogotá y declaró(aron) que la(s) firma(s) que aparece(n) en el presente documento es(son) la(s) suya(s) y que el contenido del mismo es cierto.

En constancia se firma esta diligencia.

COMO NOTARIA SEXTA DEL CIRCULO DE BOGOTA D.C. HAGO CONSTAR QUE LA FOTOCOPIA COINCIDE CON EL ORIGINAL QUE HE TENIDO A LA VISTA
BOGOTA D.C. REPUBLICA DE COLOMBIA
04 NOV. 2009
AMPARO QUINTERO ARTURO
NOTARIA

PABLO MENDEZ BARAJAS

CAVELIER
ABOGADOS

13

E: www.cavelier-abogados.com
cavelier@colomsat.net.co

EDIFICIO SISKI
CARRERA 4 No. 72 - 35
BOGOTA 8, COLOMBIA

TELEFONO: (57) (1) 347-3611
TELEFAX: (57) (1) 217-9211 (57) (1) 310-4995

Señor Jefe de la

DIVISION DE SIGNOS DISTINTIVOS

Superintendencia de Industria y Comercio

E. S. D.

Poderdante: H. LUNDBECK A/S

Poder conferido el: 11-06-98

Yo, GERMAN CAVELIER, obrando en mi calidad de apoderado principal del poderdante arriba mencionado, atentamente manifiesto a Usted que sustituyo el poder que me ha sido conferido en la persona del doctor EMILIO FERRERO, Abogado con Tarjeta Profesional N° 31.929, con todas las facultades que me fueron conferidas.

Hago la anterior sustitución conforme al artículo 66 del Código de Procedimiento Civil ya que los otros sustitutos faltan en este momento.

Señor Jefe,

GERMAN CAVELIER
T.P.A. No. 832
C.C. No. 2.877.924 de Bogotá

Acepto:

EMILIO FERRERO
T.P.A. N° 31.929
C.C. No. 438.019 de Usaquén

COMO NOTARIA SEXTA DEL CIRCULO DE BOGOTA D.C., HAGO CONSTAR QUE LA FOTOCOPIA COINCIDE CON EL ORIGINAL QUE HE TENIDO A LA VISTA
BOGOTA D.C. REPUBLICA DE COLOMBIA
04 NOV. 2009
ALVARO QUINTERO ARTURO
NOTARIA

NOTARIA SEXTA DE BOGOTA

RECONOCIMIENTO Y PRESENTACION PERSONAL

Santafé de Bogotá D. C. 19 MAYO 1999

Ante Mí JUAN MANUEL BOTERO MEDINA

NOTARIO SEXTO DEL CIRCULO DE BOGOTA

Compareció(eron) personalmente

quien(es) exhibió(eron) la(s) C. C 2877924
4358019

y la(s) Libreta(s) Militar(es): 80 a = 852
31924

[illegible]

ORIGINAL NOTARIA SEXTA DEL CIRCULO DE BOGOTA
DE ESTE DOCUMENTO PARA CONSTATAR QUE LA FOTOCOPIA COINCIDE
CON EL ORIGINAL QUE HE TENIDO A LA VISTA
BOGOTA D.C. REPUBLICA DE COLOMBIA
04 NOV. 2009
AMPARO QUINTERO ARTURO
NOTARIA

REPUBLICA DE COLOMBIA
Juan Manuel Botero Medina
Notario Sexto
SANTAFE DE BOGOTA D.C.

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau

(43) International Publication Date
16 October 2008 (16.10.2008)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2008/124153 A1

(51) International Patent Classification:
C07D 471/04 (2006.01) *A61P 29/00* (2006.01)
C07D 519/00 (2006.01) *A61P 25/00* (2006.01)
A61K 31/437 (2006.01)

(21) International Application Number:
PCT/US2008/004563

(22) International Filing Date: 9 April 2008 (09.04.2008)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
60/910,864 10 April 2007 (10.04.2007) US

(71) Applicant *(for all designated States except US)*: **NEUROGEN CORPORATION** [US/US]; 35 Northeast Industrial Road, Branford, CT 06405 (US).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants *(for US only)*: **IHLE, David, C.** [US/US]; 242 Greens Farm Road, Branford, CT 06405 (US). **GUO, Qin** [US/US]; 18 Maple Terrace, Waterford, CT 06385 (US). **HODGETTS, Kevin** [GB/US]; 224 Reservoir Road, Killingworth, CT 06419 (US). **YUAN, Jun** [US/US]; 40 Spruce Hill Drive, Guilford, CT 06437 (US).

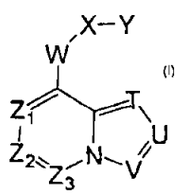
(74) Agent: **FIDEL, Seth**; Cantor Colburn, Llp, 20 Church Street, 22nd Flr., Hartford, CT 06103 (US).

(81) Designated States *(unless otherwise indicated, for every kind of national protection available)*: AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States *(unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available)*: ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published:
— *with international search report*

(54) Title: HETEROARYL AMIDE ANALOGUES AS P2X7 ANTAGONISTS



(57) **Abstract:** Heteroaryl amide analogues are provided, of Formula (I), wherein variables are as described herein. Such compounds are ligands that may be used to modulate specific receptor activity *in vivo* or *in vitro*, and are particularly useful in the treatment of conditions associated with pathological receptor activation in humans, domesticated companion animals and livestock animals. Pharmaceutical compositions and methods for using such compounds to treat such disorders are provided, as are methods for using such ligands for receptor localization studies.

WO 2008/124153 A1

HETEROARYL AMIDE ANALOGUES

CROSS-REFERENCE TO RELATED APPLICATIONS

This application claims the benefit of U.S. Provisional Application No. 60/910,864, filed April 10, 2007, which is incorporated herein by reference for any matter therein that is omitted herein.

FIELD OF THE INVENTION

This invention relates generally to heteroaryl amide analogues that have useful pharmacological properties. The invention further relates to the use of such compounds for treating conditions related to $P2X_7$ receptor activation, for identifying other agents that bind to $P2X_7$ receptor, and as probes for the detection and localization of $P2X_7$ receptors.

BACKGROUND OF THE INVENTION

Pain perception, or nociception, is mediated by the peripheral terminals of a group of specialized sensory neurons, termed "nociceptors." A wide variety of physical and chemical stimuli induce activation of such neurons in mammals, leading to recognition of a potentially harmful stimulus. Inappropriate or excessive activation of nociceptors, however, can result in debilitating acute or chronic pain.

Neuropathic pain, which typically results from damage to the nervous system, involves pain signal transmission in the absence of stimulus, pain from a normally innocuous stimulus (allodynia) and increased pain from a normally painful stimulus (hyperalgesia). In most instances, neuropathic pain is thought to occur because of sensitization in the peripheral and central nervous systems following initial damage to the peripheral nervous system (*e.g.*, via direct injury or systemic disease). Neuropathic pain is typically burning, shooting and unrelenting in its intensity and can sometimes be more debilitating than the initial injury or disease process that induced it.

Existing treatments for neuropathic pain are generally suboptimal. Opiates, such as morphine, are potent analgesics, but their usefulness is limited because of adverse side effects, such as physical addictiveness and withdrawal properties, as well as respiratory depression, mood changes, and decreased intestinal motility with concomitant constipation, nausea, vomiting, and alterations in the endocrine and

autonomic nervous systems. In addition, neuropathic pain is frequently non-responsive or only partially responsive to conventional opioid analgesic regimens, or to treatment with other drugs, such as gabapentin. Treatments employing the N-methyl-D-aspartate antagonist ketamine or the alpha(2)-adrenergic agonist clonidine can reduce acute or chronic pain, and permit a reduction in opioid consumption, but these agents are often poorly tolerated due to side effects.

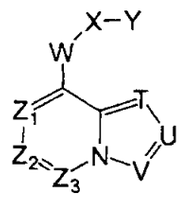
Another common condition for which existing therapies are insufficient or problematic is inflammation. Transient inflammation is a beneficial mechanism that protects mammals from invading pathogens. Uncontrolled inflammation, however, causes tissue damage and pain and is the underlying cause of many illnesses, including asthma, as well as other allergic, infectious, autoimmune, degenerative, and idiopathic diseases. Existing treatments often exhibit low, delayed or only temporary efficacy, undesirable side-effects and/or a lack of selectivity. There is a continuing need for new drugs that overcome one or more of the shortcomings of drugs currently used for immunosuppression or in the treatment or prevention of inflammatory disorders, including allergic disorders, autoimmune disorders, fibrogenic disorders, and neurodegenerative diseases, such as multiple sclerosis, amyotrophic lateral sclerosis, Alzheimer's disease, and Huntington's disease.

$P2X_7$ receptor ("$P2X_7$") is a ligand-gated ion channel that is activated by ATP and is present on a variety of cell types, including microglia in the central nervous system and cells involved in inflammation and immune system function. In particular, $P2X_7$ is involved in activation of lymphocytes and monocyte/macrophages leading to the increased release of pro-inflammatory cytokines (*e.g.*, TNFalpha and IL-1beta) from these cells. Recent studies indicate that inhibiting $P2X_7$ activation in situations of inflammation (*e.g.*, rheumatoid arthritis and other autoimmune diseases, osteoarthritis, uveitis, asthma, chronic obstructive pulmonary disease and inflammatory bowel disease) or interstitial fibrosis results in a therapeutic effect. These and other studies indicate that $P2X_7$ antagonists may find use in the treatment and prophylaxis of pain, including acute, chronic and neuropathic pain, as well as a variety of other conditions including osteoarthritis, rheumatoid arthritis, arthrosclerosis, inflammatory bowel disease, Alzheimer's disease, traumatic brain injury, asthma, chronic obstructive pulmonary disease, and fibrosis of internal organs (*e.g.*, interstitial fibrosis).

Small molecule $P2X_7$ antagonists are desirable for such therapies. The present invention fulfills this need, and provides further related advantages.

SUMMARY OF THE INVENTION

The present invention provides heteroaryl amide analogues of Formula I:



Formula I

as well as pharmaceutically acceptable salts of such compounds.

Within Formula I:

T, U and V are independently chosen from CR_3, CR_A and N; in certain embodiments, exactly one of T, U and V is CR_A;

W is $-C(=O)NR_4-$, $-NR_4C(=O)-$ or $-NR_4-NR_4-C(=O)-$;

X is absent or C_1-C_6alkylene that is substituted with from 0 to 4 substituents independently chosen from: (i) C_1-C_4alkyl, (C_3-C_8cycloalkyl)C_0-C_2alkyl and phenylC_0-C_2alkyl; (ii) substituents that are taken together to form a 3- to 7-membered cycloalkyl or heterocycloalkyl ring; and (iii) substituents that are taken together with R_4 to form a 4- to 7-membered heterocycloalkyl;

Y is C_1-C_8alkyl, C_3-C_{16}cycloalkyl, 4- to 16-membered heterocycloalkyl, 6- to 16-membered aryl or 5- to 16-membered heteroaryl, each of which is optionally substituted and each of which is preferably substituted with from 0 to 6 substituents independently chosen from hydroxy, halogen, cyano, amino, nitro, oxo, aminocarbonyl, aminosulfonyl, COOH, C_1-C_6alkyl, C_2-C_6alkenyl, C_2-C_6alkynyl, C_1-C_6haloalkyl, C_1-C_6hydroxyalkyl, C_1-C_6aminoalkyl, C_1-C_6alkoxy, C_1-C_6haloalkoxy, C_2-C_6alkyl ether, C_1-C_6alkanoyl, C_1-C_6alkylsulfonyl, (C_3-C_7cycloalkyl)C_0-C_4alkyl, mono- or di-(C_1-C_6alkyl)amino, C_1-C_6alkanoylamino, mono- or di-(C_1-C_6alkyl)aminocarbonyl, mono- or di-(C_1-C_6alkyl)aminosulfonyl and (C_1-C_6alkyl)sulfonylamino;

Z_1 and Z_3 are independently N, CH or substituted carbon (*e.g.*, CR_2);

Z_2 is N, CH or substituted carbon (*e.g.*, CR_A or CR_2);

Each R_2 and each R_3 is independently chosen from hydrogen, halogen, cyano, amino, nitro, aminocarbonyl, aminosulfonyl, COOH, C_1-C_6alkyl, C_2-C_6alkenyl, C_2-

C_6alkynyl, C_1-C_6haloalkyl, C_1-C_6hydroxyalkyl, C_1-C_6aminoalkyl, C_1-C_6alkoxy, C_1-C_6haloalkoxy, C_1-C_6alkanoyl, C_2-C_6alkyl ether, (C_3-C_7cycloalkyl)C_0-C_4alkyl, mono- or di-(C_1-C_6alkyl)amino, C_1-C_6alkylsulfonyl, C_1-C_6alkanoylamino, mono- or di-(C_1-C_6alkyl)aminocarbonyl, mono- or di-(C_1-C_6alkyl)aminosulfonyl and (C_1-C_6alkyl)sulfonylamino;

Each R_4 is independently hydrogen, C_1-C_6alkyl, (C_3-C_8cycloalkyl)C_0-C_2alkyl or taken together with a substituent of X to form a 4- to 7-membered heterocycloalkyl; and

R_A is a group of the formula -L-A-M, wherein:

L is absent or C_1-C_6alkylene that is optionally modified by the replacement of a carbon-carbon single bond with a double or triple carbon-carbon bond, which alkylene is optionally substituted with oxo or an acidic moiety such as –COOH, $-SO_3H$, $-SO_2NH_2$, $-PO_3H_2$, tetrazole or oxadizaolone;

A is absent or CO, O, NR_6, S, SO, SO_2, $CONR_6$, NR_6CO, (C_4-C_7cycloalkyl)C_0-C_4alkylene or (4- to 7-membered heterocycloalkyl)C_0-C_4alkylene; wherein R_6 is hydrogen or C_1-C_6alkyl; and

M is:

(i) hydroxy, cyano, amino, aminocarbonyl, aminosulfonyl or COOH; or

(ii) C_1-C_6haloalkyl, C_1-C_6alkoxy, 5- to 10-membered carbocycle, 4- to 10-membered heterocycle, C_1-C_6alkanoyloxy, C_1-C_6alkanoylamino, C_1-C_6alkylsulfonyl, C_1-C_6alkylsulfonylamino, C_1-C_6alkylsulfonyloxy, mono- or di-C_1-C_6alkylamino, mono- or di-(C_1-C_6alkyl)aminosulfonyl, or mono- or di-(C_1-C_6alkyl)aminocarbonyl; each of which is optionally substituted and each of which is preferably substituted with from 0 to 4 substituents independently chosen from oxo, amino, halogen, hydroxy, cyano, aminocarbonyl, aminosulfonyl, COOH, C_1-C_6alkyl, C_1-C_6hydroxyalkyl, C_1-C_6haloalkyl, C_1-C_6alkoxy, C_1-C_6haloalkoxy, C_2-C_6alkyl ether, C_1-C_6alkanoylamino, mono- or di-(C_1-C_6alkyl)amino, C_1-C_6alkylsulfonyl, C_1-C_6alkylsulfonylamino, mono- or di-(C_1-C_6alkyl)aminosulfonyl, mono- or di-(C_1-C_6alkylamino)carbonyl, and 4- to 7-membered heterocycle.

Within certain aspects, Y is C_3-C_{16}cycloalkyl, 4- to 16-membered heterocycloalkyl, 6- to 16-membered aryl or 5- to 16-membered heteroaryl, each of which is substituted with from 0 to 6 substituents independently chosen from hydroxy, halogen, cyano, amino, nitro, oxo, aminocarbonyl, aminosulfonyl, COOH, C_1-C_6alkyl, C_2-C_6alkenyl, C_2-C_6alkynyl, C_1-C_6haloalkyl, C_1-C_6hydroxyalkyl, C_1-

C_6aminoalkyl, C_1-C_6alkoxy, C_1-C_6haloalkoxy, C_2-C_6alkyl ether, C_1-C_6alkanoyl, C_1-C_6alkylsulfonyl, (C_3-C_7cycloalkyl)C_0-C_4alkyl, mono- or di-(C_1-C_6alkyl)amino, C_1-C_6alkanoylamino, mono- or di-(C_1-C_6alkyl)aminocarbonyl, mono- or di-(C_1-C_6alkyl)aminosulfonyl and (C_1-C_6alkyl)sulfonylamino;

Within certain aspects, heteroaryl amide analogues of Formula I are $P2X_7$ antagonists with an IC_{50} value no greater than 20 micromolar, 10 micromolar, 5 micromolar, 1 micromolar, 500 nanomolar or 100 nanomolar in an *in vitro* assay for determination of $P2X_7$ antagonist activity. In certain embodiments, such $P2X_7$ antagonists exhibit no detectable agonist activity in an *in vitro* assay of $P2X_7$ activity (*i.e.*, in an assay provided in Example 4, herein) at a concentration equal to the IC_{50}, 10 times the IC_{50} or 100 times the IC_{50} and/or at a concentration of 2,500 nM.

Within certain aspects, heteroaryl amide analogues provided herein are labeled with a detectable marker (*e.g.*, radiolabeled or fluorescein conjugated).

The present invention further provides, within other aspects, pharmaceutical compositions comprising at least one heteroaryl amide analogue provided herein in combination with a physiologically acceptable carrier or excipient.

Within further aspects, methods are provided for modulating (*e.g.*, reducing) cellular $P2X_7$ activation or activity, comprising contacting a cell (*e.g.*, microglia, astrocyte or peripheral macrophage or monocyte) that expresses a $P2X_7$ with at least one $P2X_7$ modulator as described herein. Such contact may occur *in vivo* or *in vitro* and is generally performed using a concentration of $P2X_7$ modulator that is sufficient to detectably alter $P2X_7$ activity *in vitro* (as determined using an assay provided in Example 4).

The present invention further provides methods for treating a condition responsive to $P2X_7$ modulation in a patient, comprising administering to the patient a therapeutically effective amount of at least one $P2X_7$ antagonist as described herein.

Within other aspects, methods are provided for treating pain in a patient, comprising administering to a patient suffering from (or at risk for) pain a therapeutically effective amount of at least one $P2X_7$ antagonist as described herein.

Within other aspects, methods are provided for treating inflammation in a patient, comprising administering to a patient suffering from (or at risk for) inflammation a therapeutically effective amount of at least one $P2X_7$ antagonist as described herein.

Methods are further provided for treating osteoarthritis, rheumatoid arthritis, arthrosclerosis, inflammatory bowel disease, Alzheimer's disease, traumatic brain injury, asthma, chronic obstructive pulmonary disease, ocular conditions (*e.g.*, glaucoma), cirrhosis, lupus, scleroderma, or fibrosis of internal organs (*e.g.*, interstitial fibrosis) in a patient, comprising administering to a patient suffering from (or at risk for) one or more of the foregoing conditions a therapeutically effective amount of at least one $P2X_7$ antagonist as described herein.

Within still further aspects, the present invention provides methods for inhibiting death of retinal ganglion cells in a patient, comprising administering to the patient a therapeutically effective amount of at least one $P2X_7$ antagonist as described herein.

Methods are further provided for identifying an agent that binds to $P2X_7$, comprising: (a) contacting $P2X_7$ with a labeled compound that is a heteroaryl amide analogue as described herein under conditions that permit binding of the compound to $P2X_7$, thereby generating bound, labeled compound; (b) detecting a signal that corresponds to the amount of bound, labeled compound in the absence of test agent; (c) contacting the bound, labeled compound with a test agent; (d) detecting a signal that corresponds to the amount of bound labeled compound in the presence of test agent; and (e) detecting a decrease in signal detected in step (d), as compared to the signal detected in step (b).

Within further aspects, the present invention provides methods for determining the presence or absence of $P2X_7$ in a sample, comprising: (a) contacting a sample with a compound as described herein under conditions that permit modulation by the compound of $P2X_7$ activity; and (b) detecting a signal indicative of a level of the compound modulating $P2X_7$ activity.

The present invention also provides packaged pharmaceutical preparations, comprising: (a) a pharmaceutical composition as described herein in a container; and (b) instructions for using the composition to (i) treat one or more conditions responsive to $P2X_7$ modulation, such as pain, osteoarthritis, rheumatoid arthritis, arthrosclerosis, inflammatory bowel disease, Alzheimer's disease, traumatic brain injury, asthma, chronic obstructive pulmonary disease, ocular conditions (*e.g.*, glaucoma), cirrhosis, lupus, scleroderma, and/or fibrosis of internal organs (*e.g.*, interstitial fibrosis) or (ii) provide retinal neuroprotection (*e.g.*, inhibit death of retinal ganglion cells).

In yet another aspect, the present invention provides methods for preparing the compounds disclosed herein, including the intermediates.

These and other aspects of the invention will become apparent upon reference to the following detailed description.

DETAILED DESCRIPTION

As noted above, the present invention provides heteroaryl amide analogues. Such compounds may be used *in vitro* or *in vivo*, to modulate $P2X_7$ activity in a variety of contexts.

TERMINOLOGY

Compounds are generally described herein using standard nomenclature. For compounds having asymmetric centers, it should be understood that (unless otherwise specified) all of the optical isomers and mixtures thereof are encompassed. In addition, compounds with carbon-carbon double bonds may occur in Z- and E- forms, with all isomeric forms of the compounds being included in the present invention unless otherwise specified. Where a compound exists in various tautomeric forms, a recited compound is not limited to any one specific tautomer, but rather is intended to encompass all tautomeric forms. Certain compounds are described herein using a general formula that includes variables (*e.g.*, R_1, A, X). Unless otherwise specified, each variable within such a formula is defined independently of any other variable, and any variable that occurs more than one time in a formula is defined independently at each occurrence.

The phrase "heteroaryl amide analogue," as used herein, encompasses all compounds of Formula I, as well as compounds of other Formulas provided herein (including any enantiomers, racemates and stereoisomers) and pharmaceutically acceptable salts thereof. In certain embodiments, substituted pyrimidinones provided herein are isolated so as to be substantially free of residual organic solvent (*i.e.*, any such solvent in the preparation is present in an amount that is at or below the limit set for that solvent by the International Council on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH)).

A "pharmaceutically acceptable salt" of a compound recited herein is an acid or base salt that is suitable for use in contact with the tissues of human beings or animals without excessive toxicity or carcinogenicity, and preferably without

irritation, allergic response, or other problem or complication. Such salts include mineral and organic acid salts of basic residues such as amines, as well as alkali or organic salts of acidic residues such as carboxylic acids. Specific pharmaceutically acceptable anions for use in salt formation include, but are not limited to, acetate, 2-acetoxybenzoate, ascorbate, benzoate, bicarbonate, bromide, calcium edetate, carbonate, chloride, citrate, dihydrochloride, diphosphate, ditartrate, edetate, estolate (ethylsuccinate), formate, fumarate, gluceptate, gluconate, glutamate, glycolate, glycollylarsanilate, hexylresorcinate, hydrabamine, hydrobromide, hydrochloride, hydroiodide, hydroxymaleate, hydroxynaphthoate, iodide, isethionate, lactate, lactobionate, malate, maleate, mandelate, methylbromide, methylnitrate, methylsulfate, mucate, napsylate, nitrate, pamoate, pantothenate, phenylacetate, phosphate, polygalacturonate, propionate, salicylate, stearate, subacetate, succinate, sulfamate, sulfanilate, sulfate, sulfonates including besylate (benzenesulfonate), camsylate (camphorsulfonate), edisylate (ethane-1,2-disulfonate), esylate (ethanesulfonate) 2-hydroxyethylsulfonate, mesylate (methanesulfonate), triflate (trifluoromethanesulfonate) and tosylate (*p*-toluenesulfonate), tannate, tartrate, teoclate and triethiodide. Similarly, pharmaceutically acceptable cations for use in salt formation include, but are not limited to ammonium, benzathine, chloroprocaine, choline, diethanolamine, ethylenediamine, meglumine, procaine, and metals such as aluminum, calcium, lithium, magnesium, potassium, sodium and zinc. Those of ordinary skill in the art will recognize further pharmaceutically acceptable salts for the compounds provided herein. In general, a pharmaceutically acceptable acid or base salt can be synthesized from a parent compound that contains a basic or acidic moiety by any conventional chemical method. Briefly, such salts can be prepared by reacting the free acid or base forms of these compounds with a stoichiometric amount of the appropriate base or acid in water or in an organic solvent, or in a mixture of the two; generally, the use of nonaqueous media, such as ether, ethyl acetate, ethanol, methanol, isopropanol or acetonitrile, is preferred.

It will be apparent that compounds and salts thereof provided herein may, but need not, be formulated as a hydrate, and that such hydrates are encompassed by the formulas, names and structures recited herein. In addition, the various non-hydrate solvates, non-covalent complexes, crystal forms and polymorphs of the compounds provided herein are within the scope of the present invention. Also provided herein are prodrugs of the compounds of the recited Formulas. A "prodrug" is a compound

that may not fully satisfy the structural requirements of the compounds provided herein, but is modified *in vivo*, following administration to a patient, to produce a compound of a formula provided herein. For example, a prodrug may be an acylated derivative of such a compound. Prodrugs include compounds wherein hydroxy, amine or sulfhydryl groups are bonded to any group that, when administered to a mammalian subject, cleaves to form a free hydroxy, amino or sulfhydryl group, respectively. Examples of prodrugs include, but are not limited to, acetate, formate, benzoate and peptide derivatives of alcohol and amine functional groups within a compound provided herein. Prodrugs may generally be prepared by modifying functional groups present in the compounds in such a way that the modifications are cleaved *in vivo* to yield the parent compounds.

As used herein, the term "alkyl" refers to a straight or branched chain saturated aliphatic hydrocarbon. Alkyl groups include groups having from 1 to 8 carbon atoms (C_1-C_8alkyl), from 1 to 6 carbon atoms (C_1-C_6alkyl) and from 1 to 4 carbon atoms (C_1-C_4alkyl), such as methyl, ethyl, propyl, isopropyl, n-butyl, *sec*-butyl, *tert*-butyl, pentyl, 2-pentyl, isopentyl, neopentyl, hexyl, 2-hexyl, 3-hexyl and 3-methylpentyl. "C_0-$C_n$alkyl" refers to a single covalent bond (C_0) or an alkyl group having from 1 to n carbon atoms; for example "C_0-C_4alkyl" refers to a single covalent bond or a C_1-C_4alkyl group. In some instances, a substituent of an alkyl group is specifically indicated. For example, "C_1-C_6hydroxyalkyl" is a C_1-C_6alkyl group substituted with at least one -OH; "C_1-C_6aminoalkyl" is a C_1-C_6alkyl group substituted with at least one $-NH_2$; C_1-C_6cyanoalkyl is a C_1-C_6alkyl group substituted with at least one -CN.

"Alkenyl" refers to straight or branched chain alkene groups, which comprise at least one unsaturated carbon-carbon double bond. Alkenyl groups include C_2-C_8alkenyl, C_2-C_6alkenyl and C_2-C_4alkenyl groups, which have from 2 to 8, 2 to 6 or 2 to 4 carbon atoms, respectively, such as ethenyl, allyl or isopropenyl. "C_2-C_6cyanoalkenyl" is a C_2-C_6alkenyl group substituted with at least one -CN.

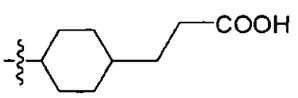
"Alkynyl" refers to straight or branched chain alkyne groups, which have one or more unsaturated carbon-carbon bonds, at least one of which is a triple bond. Alkynyl groups include C_2-C_8alkynyl, C_2-C_6alkynyl and C_2-C_4alkynyl groups, which have from 2 to 8, 2 to 6 or 2 to 4 carbon atoms, respectively.

"Alkylene" refers to a divalent alkyl group, as defined above. C_1-C_2alkylene is methylene or ethylene; C_0-C_4alkylene is a single covalent bond or an alkylene group having 1, 2, 3 or carbon atoms; C_0-C_2alkylene is a single covalent bond,

methylene or ethylene. A "C_1-C_6alkylene that is optionally modified by the replacement of a carbon-carbon single bond with a double or triple carbon-carbon bond" is a C_1-C_6alkylene group as described above, or a divalent C_2-C_6alkene or C_2-C_6alkyne.

A "cycloalkyl" is a group that comprises one or more saturated and/or partially saturated rings in which all ring members are carbon, such as cyclopropyl, cyclobutyl, cyclopentyl, cyclohexyl, cycloheptyl, cyclooctyl, adamantyl, myrtanyl and partially saturated variants of the foregoing, such as cyclohexenyl. Cycloalkyl groups do not comprise an aromatic ring or a heterocyclic ring. Certain cycloalkyl groups are C_3-C_7cycloalkyl, in which the cycloalkyl group contains a single ring having from 3 to 7 ring members, all of which are carbon. A "(C_3-C_7cycloalkyl)C_0-C_4alkyl" is a C_3-C_7cycloalkyl group linked via a single covalent bond or a C_1-C_4alkylene group.

A "(C_4-C_7cycloalkyl)C_0-C_4alkylene" is a divalent (C_3-C_7cycloalkyl)C_0-C_4alkyl group that is linked via two single covalent bonds to two specified moieties. In general, one single covalent bond is located on the cyclic portion and the other is located on the alkylene portion, if present; alternatively, if no alkylene group is present, both single covalent bonds are on different ring members. For example, with respect to the group R_A, if A is (C_6cycloalkyl)C_2alkylene and M is COOH, one R_A moiety so formed is:



By "alkoxy," as used herein, is meant an alkyl group as described above attached via an oxygen bridge. Alkoxy groups include C_1-C_6alkoxy and C_1-C_4alkoxy groups, which have from 1 to 6 or from 1 to 4 carbon atoms, respectively. Methoxy, ethoxy, propoxy, isopropoxy, n-butoxy, *sec*-butoxy, *tert*-butoxy, n-pentoxy, 2-pentoxy, 3-pentoxy, isopentoxy, neopentoxy, hexoxy, 2-hexoxy, 3-hexoxy, and 3-methylpentoxy are representative alkoxy groups.

The term "oxo" is used herein to refer to an oxygen substituent of a carbon atom that results in the formation of a carbonyl group (C=O). An oxo group that is a substituent of a nonaromatic carbon atom results in a conversion of $-CH_2-$ to $-C(=O)-$. An oxo group that is a substituent of an aromatic carbon atom results in a conversion of $-CH-$ to $-C(=O)-$ and may result in a loss of aromaticity.

The term "alkanoyl" refers to an acyl group (*e.g.*, –(C=O)–alkyl), in which carbon atoms are in a linear or branched alkyl arrangement and where attachment is through the carbon of the keto group. Alkanoyl groups have the indicated number of carbon atoms, with the carbon of the keto group being included in the numbered carbon atoms. For example a C_2alkanoyl group is -(C=O)CH_3. Alkanoyl groups include, for example, C_2-C_8alkanoyl, C_2-C_6alkanoyl and C_2-C_4alkanoyl groups, which have from 2 to 8, from 2 to 6 or from 2 to 4 carbon atoms, respectively. "C_1alkanoyl" refers to –(C=O)H, which (along with C_2-C_8alkanoyl) is encompassed by the term "C_1-C_8alkanoyl."

"Alkyl ether" refers to a linear or branched ether substituent (*i.e.*, an alkyl group that is substituted with an alkoxy group). Alkyl ether groups include C_2-C_8alkyl ether, C_2-C_6alkyl ether and C_2-C_4alkyl ether groups, which have 2 to 8, 6 or 4 carbon atoms, respectively. A C_2 alkyl ether substituent is –CH_2–O–CH_3.

The term "alkoxycarbonyl" refers to an alkoxy group attached through a keto (-(C=O)-) bridge (*i.e.*, a group having the general structure –C(=O)–O–alkyl). Alkoxycarbonyl groups include C_1-C_8, C_1-C_6 and C_1-C_4alkoxycarbonyl groups, which have from 1 to 8, 6 or 4 carbon atoms, respectively, in the alkyl portion of the group (*i.e.*, the carbon of the keto bridge is not included in the indicated number of carbon atoms). "C_1alkoxycarbonyl" refers to –C(=O)–O–CH_3; C_3alkoxycarbonyl indicates –C(=O)–O–$(CH_2)_2CH_3$ or –C(=O)–O–$(CH)(CH_3)_2$.

"Alkanoyloxy," as used herein, refers to an alkanoyl group linked via an oxygen bridge (*i.e.*, a group having the general structure –O-C(=O)-alkyl). Alkanoyloxy groups include C_1-C_8, C_1-C_6 and C_1-C_4alkanoyloxy groups, which have from 1 to 8, 6 or 4 carbon atoms, respectively, in the alkyl portion of the group. For example, "C_1alkanoyloxy" refers to –O-C(=O)-CH_3.

Similarly, "alkanoylamino," as used herein, refers to an alkanoyl group linked via a nitrogen bridge (*i.e.*, a group having the general structure –N(R)-C(=O)-alkyl), in which R is hydrogen or C_1-C_6alkyl. Alkanoylamino groups include C_1-C_8, C_1-C_6 and C_1-C_4alkanoylamino groups, which have from 1 to 8, 6 or 4 carbon atoms within the alkanoyl group, respectively, in the alkyl portion of the group.

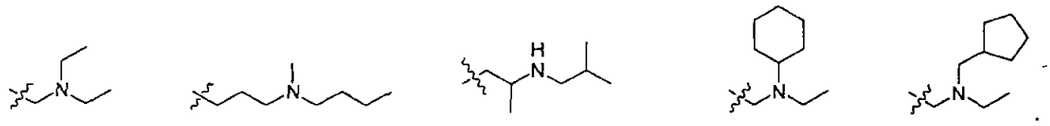
"Alkylsulfonyl" refers to groups of the formula –(SO_2)-alkyl, in which the sulfur atom is the point of attachment. Alkylsulfonyl groups include C_1-C_6alkylsulfonyl and C_1-C_4alkylsulfonyl groups, which have from 1 to 6 or from 1 to 4 carbon atoms, respectively. Methylsulfonyl is one representative alkylsulfonyl group.

"C_1-C_4haloalkylsulfonyl" is an alkylsulfonyl group that has from 1 to 4 carbon atoms and is substituted with at least one halogen (*e.g.*, trifluoromethylsulfonyl).

"Alkylsulfonylamino" refers to groups of the formula –N(R)-(SO_2)-alkyl, in which R is hydrogen or C_1-C_6alkyl and the nitrogen atom is the point of attachment. Alkylsulfonylamino groups include C_1-C_6alkylsulfonylamino and C_1-C_4alkylsulfonylamino groups, which have from 1 to 6 or 1 to 4 carbon atoms, respectively. Methylsulfonylamino is a representative alkylsulfonylamino group. "C_1-C_6haloalkylsulfonylamino" is an alkylsulfonylamino group that has from 1 to 6 carbon atoms and is substituted with at least one halogen (*e.g.*, trifluoromethylsulfonylamino).

"Aminosulfonyl" refers to groups of the formula –(SO_2)–NH_2, in which the sulfur atom is the point of attachment. The term "mono- or di-(C_1-C_6alkyl)aminosulfonyl" refers to groups that satisfy the formula –(SO_2)–NR_2, in which the sulfur atom is the point of attachment, and in which one R is C_1-C_6alkyl and the other R is hydrogen or an independently chosen C_1-C_6alkyl.

"Alkylaminoalkyl" refers to an alkylamino group linked via an alkylene group (*i.e.*, a group having the general structure –alkylene–NH–alkyl or –alkylene–N(alkyl)(alkyl)) in which each alkyl is selected independently from alkyl, cycloalkyl and (cycloalkyl)alkyl groups. Alkylaminoalkyl groups include, for example, mono- and di-(C_1-C_8alkyl)aminoC_1-C_8alkyl, mono- and di-(C_1-C_6alkyl)aminoC_1-C_6alkyl and mono- and di-(C_1-C_6alkyl)aminoC_1-C_4alkyl. "Mono- or di-(C_1-C_6alkyl)aminoC_0-C_6alkyl" refers to a mono- or di-(C_1-C_6alkyl)amino group linked via a single covalent bond or a C_1-C_6alkylene group. The following are representative alkylaminoalkyl groups:



It will be apparent that the definition of "alkyl" as used in the terms "alkylamino" and "alkylaminoalkyl" differs from the definition of "alkyl" used for all other alkyl-containing groups, in the inclusion of cycloalkyl and (cycloalkyl)alkyl groups (*e.g.*, (C_3-C_7cycloalkyl)C_0-C_6alkyl).

The term "aminocarbonyl" refers to an amide group (*i.e.*, –(C=O)NH_2). "Mono- or di-(C_1-C_6alkyl)aminocarbonyl" refers to groups of the formula –(C=O)-

$N(R)_2$, in which the carbonyl is the point of attachment, one R is C_1-C_6alkyl and the other R is hydrogen or an independently chosen C_1-C_6alkyl.

"Mono- or di-(C_1-C_6alkyl)aminocarbonylC_0-C_4alkyl" is an aminocarbonyl group in which one or both of the hydrogen atoms is replaced with C_1-C_6alkyl, and which is linked via a single covalent bond (*i.e.*, mono- or di-(C_1-C_6alkyl)aminocarbonyl) or a C_1-C_4alkylene group (*i.e.*, -(C_0-C_4alkyl)-(C=O)N(C_1-C_6alkyl)$_2$). If both hydrogen atoms are so replaced, the C_1-C_6alkyl groups may be the same or different.

The term "aminosulfonyl" refers to a sulfonamide group (*i.e.*, $-(SO_2)NH_2$). "Mono- or di-(C_1-C_8alkyl)aminosulfonyl" refers to groups of the formula $-(SO_2)$-$N(R)_2$, in which the sulfur atom is the point of attachment, one R is C_1-C_8alkyl and the other R is hydrogen or an independently chosen C_1-C_8alkyl.

"Mono- or di-(C_1-C_6alkyl)aminosulfonylC_0-C_4alkyl" is an aminosulfonyl group in which one or both of the hydrogen atoms is replaced with C_1-C_6alkyl, and which is linked via a single covalent bond (*i.e.*, mono- or di-(C_1-C_6alkyl)aminosulfonyl) or a C_1-C_4alkylene group (*i.e.*, -(C_1-C_4alkyl)-(SO_2)N(C_1-C_6alkyl)$_2$). If both hydrogen atoms are so replaced, the C_1-C_6alkyl groups may be the same or different.

The term "halogen" refers to fluorine, chlorine, bromine or iodine.

A "haloalkyl" is an alkyl group that is substituted with 1 or more independently chosen halogens (*e.g.*, "C_1-C_6haloalkyl" groups have from 1 to 6 carbon atoms). Examples of haloalkyl groups include, but are not limited to, mono-, di- or tri-fluoromethyl; mono-, di- or tri-chloromethyl; mono-, di-, tri-, tetra- or penta-fluoroethyl; mono-, di-, tri-, tetra- or penta-chloroethyl; and 1,2,2,2-tetrafluoro-1-trifluoromethyl-ethyl. Typical haloalkyl groups are trifluoromethyl and difluoromethyl. The term "haloalkoxy" refers to a haloalkyl group as defined above that is linked via an oxygen bridge.

A dash ("-") that is not between two letters or symbols is used to indicate a point of attachment for a substituent. For example, $-CONH_2$ is attached through the carbon atom.

A "carbocycle" or "carbocyclic group" comprises at least one ring formed entirely by carbon-carbon bonds (referred to herein as a carbocyclic ring), and does not contain a heterocycle. Unless otherwise specified, each ring within a carbocycle may be independently saturated, partially saturated or aromatic, and is optionally

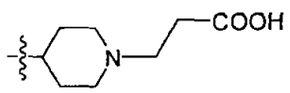
substituted as indicated. A carbocycle generally has from 1 to 3 fused, pendant or spiro rings and optionally further contains one or more alkylene bridges; carbocycles within certain embodiments have one ring or two fused rings. Typically, each ring contains from 3 to 8 ring members (*i.e.*, C_3-C_8); C_5-C_7 rings are recited in certain embodiments. Carbocycles comprising fused, pendant or spiro rings typically contain from 9 to 16 ring members. Certain representative carbocycles are cycloalkyl as described above (*e.g.*, cyclohexyl, cycloheptyl or adamantly). Other carbocycles are aryl (*i.e.*, contain at least one aromatic carbocyclic ring, with or without one or more additional aromatic and/or cycloalkyl rings). Such aryl carbocycles include, for example, phenyl, naphthyl (*e.g.*, 1-naphthyl and 2-naphthyl), fluorenyl, indanyl and 1,2,3,4-tetrahydronaphthyl.

Certain carbocycles recited herein are C_6-C_{10}arylC_0-C_8alkyl groups (*i.e.*, groups in which a 6- to 10-membered carbocyclic group comprising at least one aromatic ring is linked via a single covalent bond or a C_1-C_8alkylene group). Phenyl groups linked via a single covalent bond or C_1-C_2alkylene group are designated phenylC_0-C_2alkyl (*e.g.*, benzyl, 1-phenyl-ethyl and 2-phenyl-ethyl).

A "heterocycle" or "heterocyclic group" has from 1 to 3 fused, pendant or spiro rings, at least one of which is a heterocyclic ring (*i.e.*, one or more ring atoms is a heteroatom independently chosen from O, S and N, with the remaining ring atoms being carbon). Additional rings, if present, may be heterocyclic or carbocyclic. Typically, a heterocyclic ring comprises 1, 2, 3 or 4 heteroatoms; within certain embodiments each heterocyclic ring has 1 or 2 heteroatoms per ring. Each heterocyclic ring generally contains from 3 to 8 ring members (rings having from 4 or 5 to 7 ring members are recited in certain embodiments) and heterocycles comprising fused, pendant or spiro rings typically contain from 9 to 14 ring members. Certain heterocycles comprise a sulfur atom as a ring member; in certain embodiments, the sulfur atom is oxidized to SO or SO_2. Unless otherwise specified, a heterocycle may be a heterocycloalkyl group (*i.e.*, each ring is saturated or partially saturated), such as a 4- to 7-membered heterocycloalkyl, which generally comprises 1, 2, 3 or 4 ring atoms that are independently chosen from C, O, N and S; or a heteroaryl group (*i.e.*, at least one ring within the group is aromatic), such as a 5- to 10-membered heteroaryl (which may be monocyclic or bicyclic) or a 6-membered heteroaryl (*e.g.*, pyridyl or pyrimidyl). N-linked heterocyclic groups are linked via a component nitrogen atom.

A "heterocycleC_0-C_4alkyl" is a heterocyclic group linked via a single covalent bond or C_1-C_4alkylene group. A "(4- to 7-membered heterocycloalkyl)C_1-C_4alkyl" is a heterocycloalkyl ring with from 4 to 7 ring members that is linked via a C_1-C_4alkylene group.

A "(4- to 7-membered heterocycloalkyl)C_0-C_4alkylene" is a divalent (4- to 7-membered heterocycloalkyl)C_0-C_4alkyl group that is linked via two single covalent bonds to two specified moieties. In general, one such single covalent bond is located on the cyclic portion and the other is located on the alkylene portion, if present; alternatively, if no alkylene group is present, both such single covalent bonds are located on different ring members. For example, with respect to the group R_A, if A is a (piperidinyl)C_2alkylene and M is COOH, one R_A moiety so formed is:



A "substituent," as used herein, refers to a molecular moiety that is covalently bonded to an atom within a molecule of interest. For example, a ring substituent may be a moiety such as a halogen, alkyl group, haloalkyl group or other group that is covalently bonded to an atom (preferably a carbon or nitrogen atom) that is a ring member. Substituents of aromatic groups are generally covalently bonded to a ring carbon atom. The term "substitution" refers to replacing a hydrogen atom in a molecular structure with a substituent, such that the valence on the designated atom is not exceeded, and such that a chemically stable compound *(i.e.,* a compound that can be isolated, characterized, and tested for biological activity) results from the substitution.

Groups that are "optionally substituted" are unsubstituted or are substituted by other than hydrogen at one or more available positions, typically 1, 2, 3, 4 or 5 positions, by one or more suitable groups (which may be the same or different). Optional substitution is also indicated by the phrase "substituted with from 0 to X substituents," where X is the maximum number of possible substituents. Certain optionally substituted groups are substituted with from 0 to 2, 3 or 4 independently selected substituents (*i.e.,* are unsubstituted or substituted with up to the recited maximum number of substituents). Other optionally substituted groups are substituted with at least one substituent (*e.g.,* substituted with from 1 to 2, 3 or 4 independently selected substituents).

The term "$P2X_7$" hereinbelow refers to any $P2X_7$ receptor, preferably a mammalian receptor such as the human or rat $P2X_7$ receptors disclosed in US Patent No. 6,133,434, as well as homologues thereof found in other species.

A "$P2X_7$ modulator," also referred to herein as a "modulator," is a compound that modulates $P2X_7$ activation and/or $P2X_7$-mediated activity (*e.g.*, signal transduction). $P2X_7$ modulators specifically provided herein are compounds of Formula I and pharmaceutically acceptable salts thereof. A modulator may be a $P2X_7$ agonist or antagonist.

A modulator is considered an "antagonist" if it detectably inhibits $P2X_7$-mediated signal transduction (using, for example, a representative assay provided in Example 4); in general, such an antagonist inhibits $P2X_7$ activation with a IC_{50} value of less than 20 micromolar, preferably less than 10 micromolar, more preferably less than 5 micromolar, more preferably less than 1 micromolar, still more preferably less than 500 nanomolar, and most preferably less than 100 nanomolar within an assay provided in Example 4. $P2X_7$ antagonists include neutral antagonists and inverse agonists.

An "inverse agonist" of $P2X_7$ is a compound that reduces the activity of $P2X_7$ below its basal activity level in the absence of added ligand. Inverse agonists of $P2X_7$ may also inhibit the activity of ligand at $P2X_7$ and/or binding of ligand to $P2X_7$. The basal activity of $P2X_7$, as well as a reduction in $P2X_7$ activity due to the presence of $P2X_7$ antagonist, may be determined from a calcium mobilization assay (*e.g.*, the assay of Example 4).

A "neutral antagonist" of $P2X_7$ is a compound that inhibits the activity of ligand at $P2X_7$, but does not significantly change the basal activity of $P2X_7$ (*i.e.*, within a calcium mobilization assay as described in Example 4 performed in the absence of ligand, $P2X_7$ activity is reduced by no more than 10%, preferably by no more than 5%, and more preferably by no more than 2%; most preferably, there is no detectable reduction in activity). Neutral antagonists of $P2X_7$ may inhibit the binding of ligand to $P2X_7$.

As used herein a "$P2X_7$ agonist" is a compound that elevates the activity of the $P2X_7$ above the basal activity level of $P2X_7$ (*i.e.*, enhances $P2X_7$ activation and/or $P2X_7$-mediated activity, such as signal transduction). $P2X_7$ agonist activity may be detected using the representative assay provided in Example 4. $P2X_7$ agonists include ATP and 2'(3')-O-(4-benzoyl-benzoyl)adenosine 5'-triphosephate (BzATP).

A "therapeutically effective amount" (or dose) is an amount that, upon administration to a patient, results in a discernible patient benefit (*e.g.*, provides detectable relief from at least one condition being treated). Such relief may be detected using any appropriate criteria, including alleviation of one or more symptoms such as pain. A therapeutically effective amount or dose generally results in a concentration of compound in a body fluid (such as blood, plasma, serum, CSF, synovial fluid, lymph, cellular interstitial fluid, tears or urine) that is sufficient to alter $P2X_7$-mediated signal transduction (using an assay provided in Example 4). It will be apparent that the discernible patient benefit may be apparent after administration of a single dose, or may become apparent following repeated administration of the therapeutically effective dose according to a predetermined regimen, depending upon the indication for which the compound is administered.

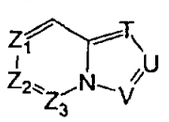
By "statistically significant," as used herein, is meant results varying from control at the $p<0.1$ level of significance as measured using a standard parametric assay of statistical significance such as a student's T test.

A "patient" is any individual treated with a compound provided herein. Patients include humans, as well as other animals such as companion animals (*e.g.*, dogs and cats) and livestock. Patients may be experiencing one or more symptoms of a condition responsive to $P2X_7$ modulation or may be free of such symptom(s) (*i.e.*, treatment may be prophylactic in a patient considered at risk for the development of such symptoms).

HETEROARYL AMIDE ANALOGUES

As noted above, the present invention provides heteroaryl amide analogues of Formula I. Within certain aspects, such compounds are modulators that may be used in a variety of contexts, including in the treatment of conditions responsive to $P2X_7$ modulation, such as pain. Such modulators are also useful as probes for detection and localization of $P2X_7$ and as standards in $P2X_7$-mediated signal transduction assays.

Within Formula I, the heteroaryl core:

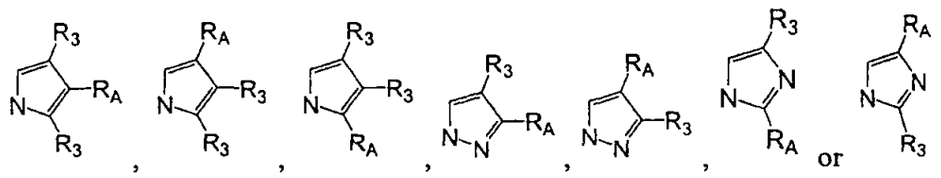


comprises at least one nitrogen atom, as indicated, and optionally comprises additional nitrogen atom(s) at one or more of T, U, V, Z_1, Z_2 and/or Z_3. In certain

embodiments, Z_3 is CR_2; in further embodiments, Z_3 is CH. Within other embodiments, Z_1, Z_2 and Z_3 are each CR_2. The 5-membered ring portion of the core:



is, within certain embodiments,



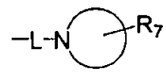
Where present, each R_3 is generally as described above; in certain compounds each R_3 is independently hydrogen or C_1-C_4alkyl.

The variable R_A is a ring substituent as described above. In certain compounds, exactly one of T, U and V is CR_A (*i.e.*, one and only one of T, U and V is a carbon atom that is substituted with R_A). Representative R_A groups include, for example, C_1-C_6hydroxyalkyl, C_1-C_6cyanoalkyl, C_2-C_6alkenyl, C_2-C_6alkyl ether, phenylC_0-C_4alkyl (*e.g.*, phenylC_1-C_4alkyl), (4- to 7-membered heterocycle)C_0-C_4alkyl, (C_1-C_6alkylsulfonylamino)C_0-C_4alkyl, (C_1-C_6alkanoyloxy)C_0-C_4alkyl, (C_1-C_6alkylsulfonyloxy)C_0-C_4alkyl, (mono- or di-C_1-C_6alkylamino)C_0-C_4alkyl, and (mono- or di-C_1-C_6alkylaminocarbonyl)C_0-C_4alkyl; each of which is substituted with from 0 to 4 substituents independently chosen from: (i) oxo, halogen, amino, cyano, hydroxy, aminocarbonyl, aminosulfonyl and COOH; and (ii) C_1-C_6alkyl, C_1-C_6hydroxyalkyl, C_1-C_6alkoxy, C_2-C_6alkyl ether, C_1-C_6alkanoylamino, mono- or di-(C_1-C_6alkyl)amino, C_1-C_6alkylsulfonyl, C_1-C_6alkylsulfonylamino, mono- or di-C_1-C_6alkylaminocarbonyl, mono- or di-C_1-C_6alkylaminosulfonyl, phenyl and 4- to 7-membered heterocycle; each of which is substituted with from 0 to 4 substituents independently chosen from halogen, hydroxy, amino, oxo, aminocarbonyl, aminosulfonyl, COOH, C_1-C_4alkyl and C_1-C_4haloalkyl.

Within certain embodiments, R_A is C_1-C_6hydroxyalkyl, C_1-C_6cyanoalkyl, C_2-C_6cyanoalkenyl, C_2-C_6alkyl ether, (mono- or di-C_1-C_6alkylamino)C_0-C_4alkyl, (mono- or di-C_1-C_6alkylaminocarbonyl)C_0-C_4alkyl, or (4- to 7-membered heterocycle)C_1-C_4alkyl; each of which is substituted with from 0 to 4 substituents independently chosen from amino, hydroxy, oxo, halogen, aminocarbonyl, aminosulfonyl, C_1-C_6alkyl, C_1-C_6hydroxyalkyl, C_1-C_6alkoxy, C_2-C_6alkyl ether, mono- or di-(C_1-C_6alkyl)amino, mono- or di-C_1-C_6alkylaminocarbonyl, C_1-C_6alkylsulfonyl, C_1-

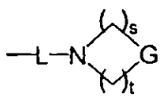
C_6alkylsulfonylamino, 4- to 7-membered heterocycloalkyl, and 5- or 6-membered heteroaryl.

Within further embodiments, the "M" portion of R_A is a N-linked heterocycloalkyl. Certain such R_A groups satisfy the Formula:



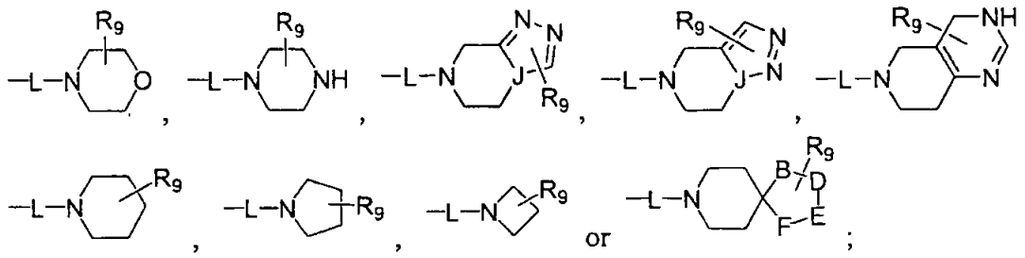
wherein: L is absent or C_1-C_6alkylene that is optionally substituted with oxo;  represents a 4- to 7-membered heterocycloalkyl that is optionally fused to phenyl or to a 5- or 6-membered heteroaryl; and R_7 represents from 0 to 4 substituents independently chosen from: (i) hydroxy, amino, oxo, aminocarbonyl, aminosulfonyl and COOH; (ii) C_1-C_6alkyl, mono- or di-(C_1-C_6alkyl)aminoC_0-C_4alkyl, C_1-C_6alkylsulfonylC_0-C_4alkyl, C_1-C_6alkylsulfonylaminoC_0-C_4alkyl, and 4- to 7-membered heterocycle; each of which is substituted with from 0 to 4 substituents independently chosen from halogen, hydroxy, amino, oxo, aminocarbonyl, aminosulfonyl, COOH, C_1-C_6alkyl, C_1-C_6alkoxy, mono- or di-(C_1-C_6alkyl)amino, and C_1-C_6alkylsulfonylamino; (iii) substituents that are taken together to form a bridge of the Formula $-(CH_2)_q$-P-$(CH_2)_r$-, wherein q and r are independently 0 or 1 and P is CH_2, O, NH or S; and (iv) substituents that are taken together to form a spiro 4- to 7-membered heterocycloalkyl ring that is substituted with from 0 to 2 substituents independently chosen from oxo and C_1-C_4alkyl.

Certain such R_A moieties further satisfy the Formula:



wherein: L is C_1-C_2alkylene that is optionally substituted with oxo; G is CHR_8, NH or O; s and t are independently 0, 1, 2, 3 or 4, such that the sum of s and t ranges from 2 to 5; and R_8 is: (i) hydrogen, amino, aminocarbonyl, aminosulfonyl or COOH; or (ii) C_1-C_6alkyl, mono- or di-(C_1-C_6alkyl)aminoC_0-C_4alkyl, C_1-C_6alkylsulfonylC_0-C_4alkyl, C_1-C_6alkylsulfonylaminoC_0-C_4alkyl, or 4- to 7-membered heterocycle; each of which is substituted with from 0 to 4 substituents independently chosen from halogen, hydroxy, amino, oxo, aminocarbonyl, aminosulfonyl, COOH, C_1-C_6alkyl, C_1-C_6alkoxy, mono- or di-(C_1-C_6alkyl)amino, and C_1-C_6alkylsulfonylamino.

Other such R_A moieties further satisfy one of the following Formulas:

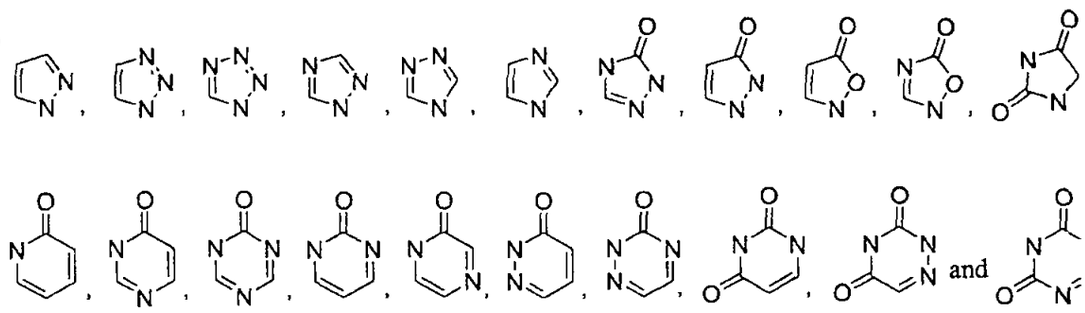


wherein J is CH or N; B, D, E and F are independently chosen from CH_2, NH and O; and R_9 represents from 0 to 2 substituents independently chosen from: (i) amino, aminocarbonyl and COOH; and (ii) C_1-C_6alkyl, mono- or di-(C_1-C_6alkyl)aminoC_0-C_2alkyl, C_1-C_6alkylsulfonyl and C_1-C_6alkylsulfonylamino; each of which is substituted with from 0 to 3 substituents independently chosen from halogen, hydroxy, oxo and COOH.

Within other embodiments, R_A is C_1-C_6alkyl, C_2-C_6alkenyl, C_2-C_6alkyl ether, or mono- or di-(C_1-C_6alkyl)aminoC_0-C_4alkyl, each of which is substituted with from 1 to 4 substituents independently chosen from halogen, hydroxy, cyano, amino, oxo, aminocarbonyl, aminosulfonyl, COOH, C_1-C_6alkyl, C_1-C_6alkoxy, mono- or di-(C_1-C_6alkyl)amino, C_1-C_6alkanoylamino, C_1-C_6alkylsulfonyl, C_1-C_6alkylsulfonyloxy, C_1-C_6alkylsulfonylamino, phenyl that is optionally substituted with halogen or C_1-C_4alkyl, and 4- to 7-membered heterocycle that is optionally substituted with C_1-C_4alkyl. Representative such R_A groups include, for example, mono-(C_1-C_6alkyl)aminoC_0-C_2alkyl and C_2-C_6alkyl ether, each of which is substituted with from 1 to 4 substituents independently chosen from halogen, hydroxy, oxo, COOH, C_1-C_4alkyl and C_1-C_4alkoxy.

Within still further embodiments, R_A is a group of the Formula L-A-M as described above, wherein L is not absent; A is absent; and M is phenyl or a 5- or 6-membered heteroaryl, each of which is substituted with from 0 to 4 substituents independently chosen from oxo, amino, halogen, hydroxy, cyano, aminocarbonyl, aminosulfonyl, COOH, C_1-C_6alkyl, C_1-C_6hydroxyalkyl, C_1-C_6haloalkyl, C_1-C_6alkoxy, C_1-C_6haloalkoxy, C_2-C_6alkyl ether, C_1-C_6alkanoylamino, mono- or di-(C_1-C_6alkyl)amino, C_1-C_6alkylsulfonyl, C_1-C_6alkylsulfonylamino, mono- or di-(C_1-C_6alkyl)aminosulfonyl, mono- or di-(C_1-C_6alkylamino)carbonyl, and 4- to 7-membered heterocycle. Within certain such compounds, M is a 5- or 6-membered heteroaryl, each of which is optionally substituted. Certain such 5- or 6-membered heteroaryl moieties include, for example:

(i) imidazolyl, triazolyl, tetrazolyl, pyridyl, pyridazinyl or pyrimidinyl, each of which is substituted with from 0 to 4 substituents independently chosen from oxo, amino, halogen, hydroxy, cyano, aminocarbonyl, aminosulfonyl, COOH, C_1-C_6alkyl, C_1-C_6hydroxyalkyl, C_1-C_6haloalkyl, C_1-C_6alkoxy, C_1-C_6haloalkoxy, C_2-C_6alkyl ether, C_1-C_6alkanoylamino, mono- or di-(C_1-C_6alkyl)amino, C_1-C_6alkylsulfonyl, C_1-C_6alkylsulfonylamino, mono- or di-(C_1-C_6alkyl)aminosulfonyl, mono- or di-(C_1-C_6alkylamino)carbonyl, and 4- to 7-membered heterocycle; and

(ii)  and

each of which is substituted with from 0 to 2 substituents independently chosen from amino, halogen, hydroxy, cyano, aminocarbonyl, aminosulfonyl, COOH, C_1-C_6alkyl, C_1-C_6hydroxyalkyl, C_1-C_6haloalkyl, C_1-C_6alkoxy, C_1-C_6haloalkoxy, C_2-C_6alkyl ether, C_1-C_6alkanoylamino, mono- or di-(C_1-C_6alkyl)amino, C_1-C_6alkylsulfonyl, C_1-C_6alkylsulfonylamino, mono- or di-(C_1-C_6alkyl)aminosulfonyl, mono- or di-(C_1-C_6alkylamino)carbonyl, and 4- to 7-membered heterocycle.

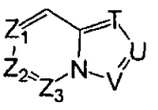
Within other embodiments, R_A is a group of the Formula L-A-M, wherein L is C_0-C_3alkylene that is optionally substituted with oxo or COOH; A is absent; and M is phenyl that is substituted with amino, cyano, aminocarbonyl, aminosulfonyl, COOH or C_1-C_6alkyl.

Within other embodiments, R_A is a group of the Formula L-A-M, wherein L is C_1-C_2alkylene that is optionally substituted with oxo; A is absent; and M is mono- or di-(C_1-C_6alkyl)amino that is substituted with a 5- or 6-membered heteroaryl, each of which heteroaryl is substituted with from 0 to 4 substituents independently chosen from oxo, amino, halogen, hydroxy, cyano, aminocarbonyl, aminosulfonyl, COOH, C_1-C_6alkyl, C_1-C_6hydroxyalkyl, C_1-C_6haloalkyl, C_1-C_6alkoxy, C_1-C_6haloalkoxy, C_2-C_6alkyl ether, C_1-C_6alkanoylamino, mono- or di-(C_1-C_6alkyl)amino, C_1-C_6alkylsulfonyl, C_1-C_6alkylsulfonylamino, mono- or di-(C_1-C_6alkyl)aminosulfonyl,

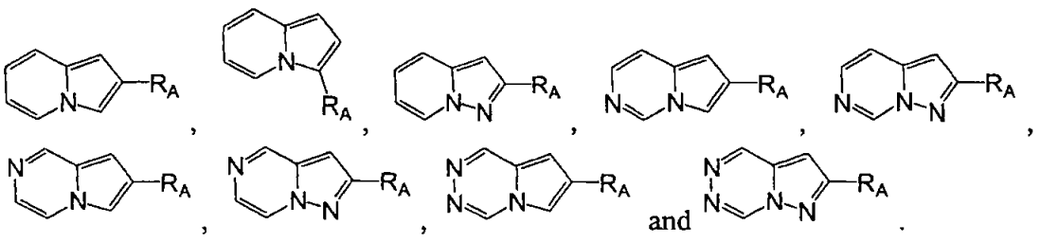
mono- or di-(C_1-C_6alkylamino)carbonyl, and 4- to 7-membered heterocycle. Representative 5- or 6-membered heteroaryls are as illustrated above.

As noted above, each of the variables Z_1, Z_2 and Z_3 in Formula A or Formula I is generally N, CH or substituted carbon. Within certain embodiments, Z_1, Z_2 and Z_3 are each CR_2; Z_1 is N and Z_2 and Z_3 are each CR_2; Z_2 is N and Z_1 and Z_3 are each CR_2; Z_3 is N and Z_1 and Z_3 are each CR_2; or Z_1 and Z_3 are N and Z_2 is CR_2. Each R_2, within certain such compounds, is hydrogen or C_1-C_6alkyl.

Certain representative heteroaryl cores:



include, for example:



and

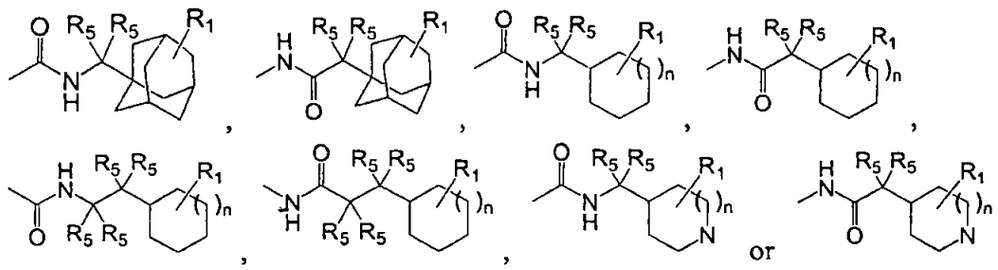
The variable "W," as noted above is generally W is $-C(=O)NR_4-$, $-NR_4C(=O)-$ or $-NR_4-NR_4-C(=O)-$. It will be apparent that the orientation of these groups is intended to be retained; for example, in a compound in which W is $-C(=O)NR_4-$, the carbonyl of W is directly linked to the 6-membered ring of the bicyclic core and the nitrogen of W is directly linked to X. R_4 is generally as described above; in certain embodiments, R_4 is hydrogen or methyl.

The variable "X" is generally as described above; in certain embodiments, X is C_1-C_4alkylene (*e.g.*, methylene or ethylene), each of which is substituted with from 0 to 4 substituents independently chosen from C_1-C_4alkyl, (C_3-C_8cycloalkyl)C_0-C_2alkyl, phenyl and substituents that are taken together to form a 3- to 7-membered cycloalkyl or heterocycloalkyl ring.

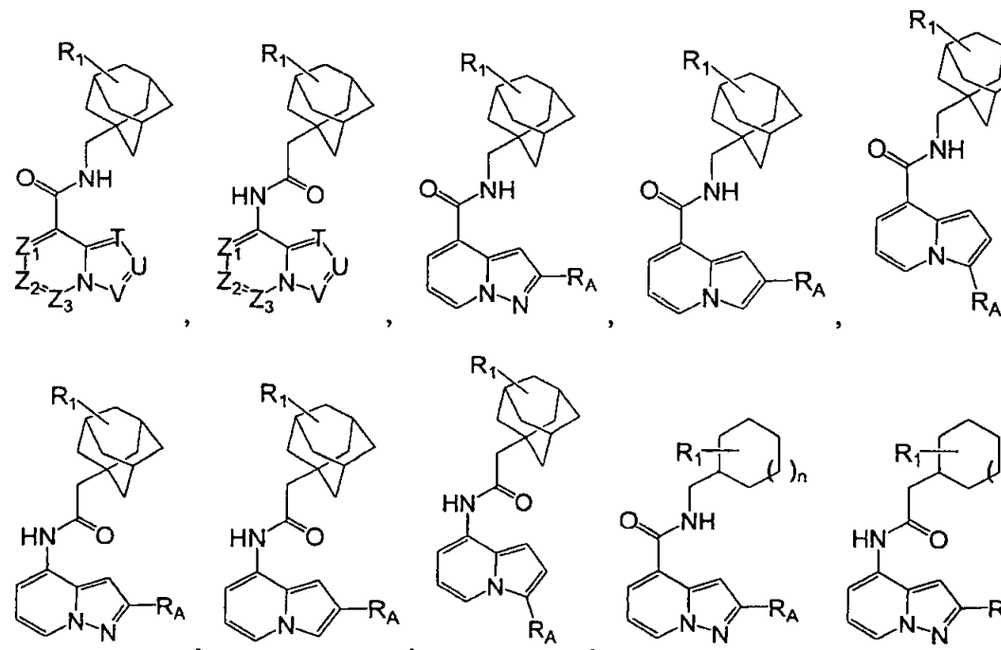
The variable "Y" is generally a cyclic moiety, optionally substituted. In certain compounds, Y is a cycloalkyl or heterocycloalkyl group, such as cyclopropyl, cyclobutyl, cyclopentyl, cyclohexyl, cycloheptyl, piperidinyl, piperazinyl, morpholinyl, or adamantyl, each of which is optionally substituted as described above; in certain such compounds, each Y moiety is substituted with from 0 to 4 substituents independently chosen from halogen, hydroxy, cyano, amino, C_1-C_6alkyl,

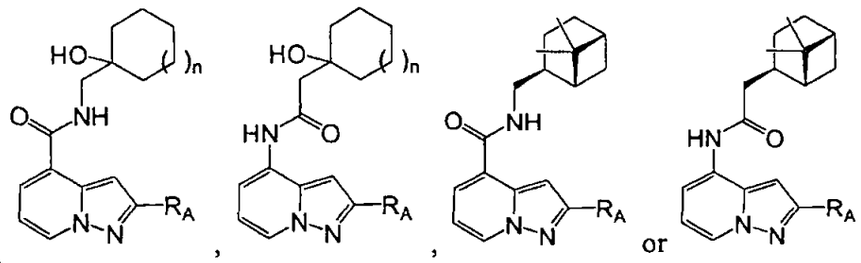
C_2-C_6alkenyl, C_2-C_6alkynyl, C_1-C_6haloalkyl, C_1-C_6hydroxyalkyl, C_1-C_6alkoxy, and mono- or di-(C_1-C_6alkyl)amino.

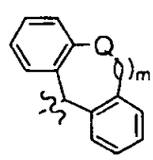
Within certain heteroaryl amide analogues provided herein, –W-X-Y is:

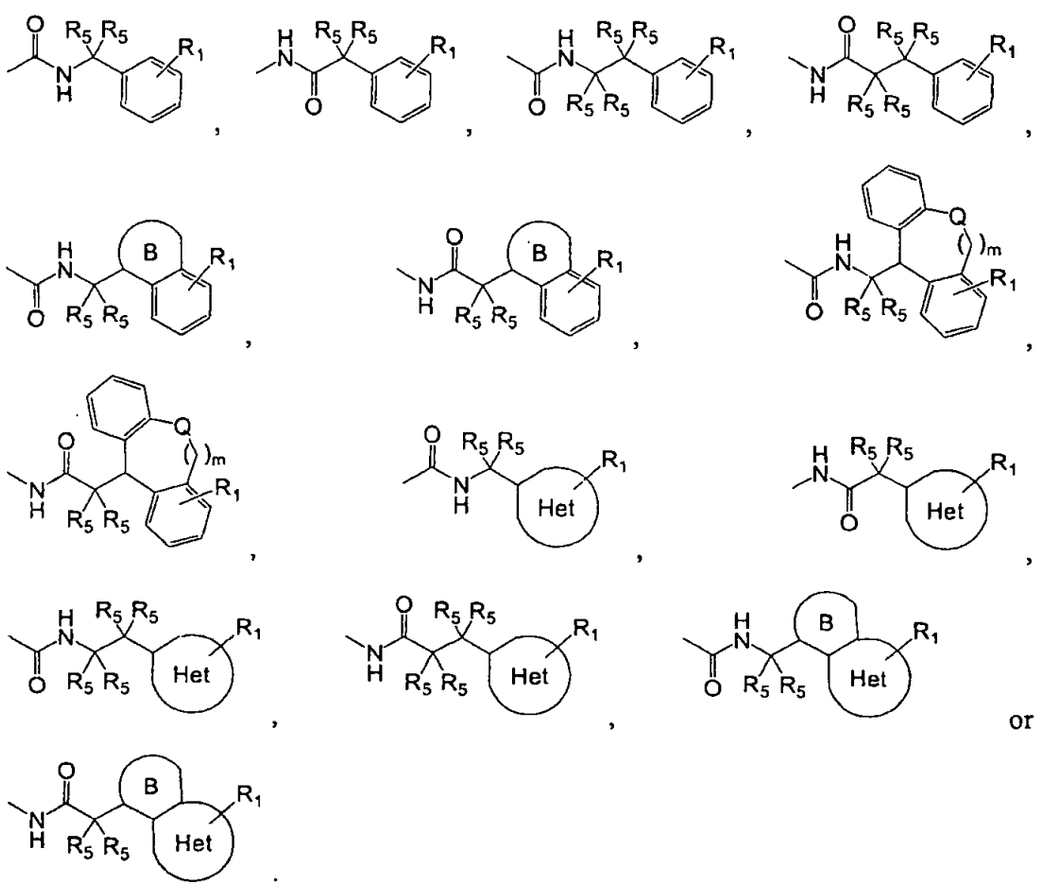


wherein: n is 0, 1 or 2; R_1 represents from 0 to 2 substituents independently chosen from halogen, hydroxy, cyano, amino, nitro, aminocarbonyl, aminosulfonyl, C_1-C_6alkyl, C_2-C_6alkenyl, C_2-C_6alkynyl, C_1-C_6haloalkyl, C_1-C_6hydroxyalkyl, C_1-C_6alkoxy, C_1-C_6haloalkoxy, (C_3-C_7cycloalkyl)C_0-C_4alkyl, and mono- or di-(C_1-C_6alkyl)amino; or two substituents represented by R_1 are taken together to form a C_1-C_3alkylene bridge or a fused or spiro 3- to 7-membered carbocyclic or heterocyclic ring; and each R_5 is independently hydrogen, C_1-C_6alkyl, C_3-C_7cycloalkyl or phenyl; or two R_5 are taken together to form a C_3-C_8cycloalkyl. Certain such compounds further satisfy the formula:

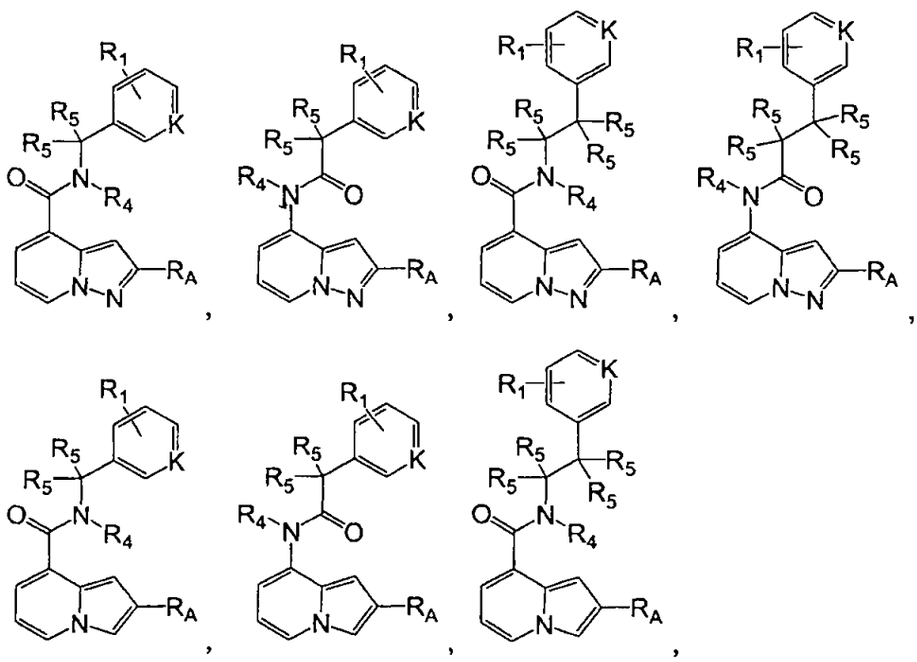


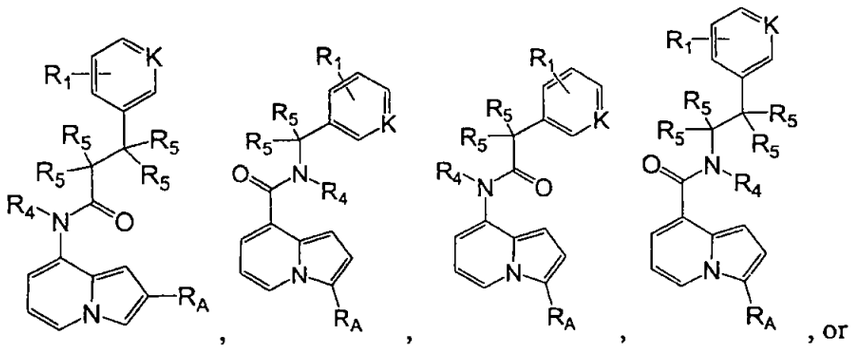


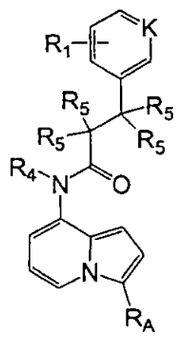
Within other compounds, Y is an aromatic moiety, such as: (i) phenyl or a 5- or 6-membered heteroaryl, each of which is optionally fused to a 5- to 7-membered carbocyclic or heterocyclic ring; or (ii)  ; each of which Y is substituted with from 0 to 4 substituents independently chosen from halogen, hydroxy, cyano, amino, C_1-C_6alkyl, C_2-C_6alkenyl, C_2-C_6alkynyl, C_1-C_6haloalkyl, C_1-C_6hydroxyalkyl, C_1-C_6alkoxy and mono- or di-(C_1-C_6alkyl)amino. Within certain compounds, –W-X-Y is:



wherein:  is a 5- to 7-membered carbocyclic or heterocyclic ring;  is a 5- or 6-membered heteroaryl; R_1 represents from 0 to 2 substituents independently chosen from halogen, hydroxy, cyano, amino, nitro, aminocarbonyl, aminosulfonyl, C_1-C_6alkyl, C_2-C_6alkenyl, C_2-C_6alkynyl, C_1-C_6haloalkyl, C_1-C_6hydroxyalkyl, C_1-C_6alkoxy, C_1-C_6haloalkoxy, (C_3-C_7cycloalkyl)C_0-C_4alkyl, and mono- or di-(C_1-C_6alkyl)amino; or two substituents represented by R_1 are taken together to form a fused or spiro 3- to 7-membered carbocyclic or heterocyclic ring; each R_5 is independently hydrogen, C_1-C_6alkyl, C_3-C_7cycloalkyl or phenyl; or two R_5 are taken together to form a C_3-C_8cycloalkyl; Q is CH_2, CO, O, NH, S, SO or SO_2; and m is 0 or 1. Certain such compounds further satisfy the formula:




, or


;

wherein K is CH or N. It will be apparent that when K is CH, the carbon atom at the K position may, but need not, be substituted with a substituent represented by R_1.

Representative heteroaryl amide analogues provided herein include, but are not limited to, those specifically described in Examples 1-3. It will be apparent that the specific compounds recited herein are representative only, and are not intended to limit the scope of the present invention. Further, as noted above, all compounds of the present invention may be present as a free acid or base, or as a pharmaceutically acceptable salt. In addition, other forms such as hydrates and prodrugs of such compounds are specifically contemplated by the present invention.

Within certain aspects of the present invention, heteroaryl amide analogues provided herein detectably alter (modulate) $P2X_7$ activity, as determined using an assay such as an assay recited in Example 4, herein. Additional assays that may be used for this purpose include assays that measure IL-1β release; assays that measure uptake of a membrane-impermeant fluorescent dye such as YO-PRO1; assays that measure lucifer yellow uptake; assays that measure ethidium bromide uptake; and assays that use calcium imaging to detect $P2X_7$ activity; all of which assays are well known in the art. Certain modulators provided herein detectably modulate $P2X_7$ activity at micromolar concentrations, at nanomolar concentrations, or at subnanomolar concentrations.

As noted above, compounds that are $P2X_7$ antagonists are preferred within certain embodiments. IC_{50} values for such compounds may be determined using a standard *in vitro* $P2X_7$-mediated calcium mobilization assay, as provided in Example 4. Briefly, cells expressing $P2X_7$ are contacted with a compound of interest and with an indicator of intracellular calcium concentration (*e.g.*, a membrane permeable calcium sensitivity dye such as Fluo-3, Fluo-4 or Fura-2 (Invitrogen, Carlsbad, CA), each of which produce a fluorescent signal when bound to Ca^{++}). Such contact is preferably carried out by one or more incubations of the cells in buffer or culture medium comprising either or both of the compound and the indicator in solution. Contact is maintained for an amount of time sufficient to allow the dye to enter the cells (*e.g.*, 1-2 hours). Cells are washed or filtered to remove excess dye and are then contacted with a $P2X_7$ agonist (*e.g.*, ATP or 2'(3')-O-(4-benzoyl-benzoyl)adenosine 5'-triphosephate at, for example, a concentration equal to the agonist's EC_{50}), and a fluorescence response is measured. When agonist-contacted cells are contacted with a compound that is a $P2X_7$ antagonist, the fluorescence response is generally reduced by at least 20%, preferably at least 50% and more preferably at least 80%, as compared to cells that are contacted with the agonist in the absence of test compound. IC_{50} stands for 50% Inhibitory Concentration, i.e., the concentration of compound that inhibits receptor (e.g., $P2X_7$) activity by 50% in an assay. Note that a lower IC_{50} value for a compound at a particular receptor corresponds to the compound exhibiting more potency at that receptor, and higher IC_{50} values correspond to less potency at that receptor. In certain embodiments, $P2X_7$ antagonists provided herein exhibit no detectable agonist activity an *in vitro* assay of $P2X_7$ agonism at a concentration of compound equal to the IC_{50}. Certain such antagonists exhibit no detectable agonist activity an *in vitro* assay of $P2X_7$ agonism at a concentration of compound that is 100-fold higher than the IC_{50}.

$P2X_7$ modulating activity may also, or alternatively, be assessed using an *in vivo* pain relief assay as provided in Example 5. Modulators provided herein preferably have a statistically significant specific effect on $P2X_7$ activity within such a functional assay.

In certain embodiments, preferred modulators are non-sedating. In other words, a dose of modulator that is twice the minimum dose sufficient to provide analgesia in an animal model for determining pain relief (such as a model provided in Example 5, herein) causes only transient (*i.e.*, lasting for no more than ½ the time

that pain relief lasts) or preferably no statistically significant sedation in an animal model assay of sedation (using the method described by Fitzgerald et al. (1988) *Toxicology* 49(2-3):433-9). Preferably, a dose that is five times the minimum dose sufficient to provide analgesia does not produce statistically significant sedation. More preferably, a modulator provided herein does not produce sedation at intravenous doses of less than 25 mg/kg (preferably less than 10 mg/kg) or at oral doses of less than 140 mg/kg (preferably less than 50 mg/kg, more preferably less than 30 mg/kg).

If desired, compounds provided herein may be evaluated for certain pharmacological properties including, but not limited to, oral bioavailability (preferred compounds are orally bioavailable to an extent allowing for therapeutically effective concentrations of the compound to be achieved at oral doses of less than 140 mg/kg, preferably less than 50 mg/kg, more preferably less than 30 mg/kg, even more preferably less than 10 mg/kg, still more preferably less than 1 mg/kg and most preferably less than 0.1 mg/kg), toxicity (a preferred compound is nontoxic when a therapeutically effective amount is administered to a subject), side effects (a preferred compound produces side effects comparable to placebo when a therapeutically effective amount of the compound is administered to a subject), serum protein binding and *in vitro* and *in vivo* half-life (a preferred compound exhibits an *in vivo* half-life allowing for no more than Q.I.D. dosing, preferably T.I.D. dosing, more preferably B.I.D. dosing, and most preferably once-a-day dosing). In addition, it may be desireable to select compounds with differential penetration of the blood brain barrier. For modulators used to treat pain or neurodegenerative disease by modulating CNS $P2X_7$ activity, high blood brain barrier penetration is preferred, such that total daily oral doses as described above provide such modulation in the CNS to a therapeutically effective extent, while compounds exhibiting low penetration of the blood brain barrier resulting in low brain levels of modulators may be preferred to treat peripheral nerve mediated pain or certain peripheral inflammatory diseases (e.g. rheumatoid arthritis). Preferably such low blood brain barrier penetrant compounds at such doses do not provide brain (*e.g.*, CSF) levels of the compound sufficient to modulate $P2X_7$ activity to a clinically or therapeutically effective extent. Routine assays that are well known in the art may be used to assess these properties, and identify superior compounds for a particular use. For example, assays used to predict bioavailability include transport across human intestinal cell monolayers, including

Caco-2 cell monolayers. Penetration of the blood brain barrier of a compound in humans may be predicted from the brain levels of the compound in laboratory animals given the compound (*e.g.*, intravenously). Serum protein binding may be predicted from albumin binding assays. Compound half-life is inversely proportional to the frequency of dosage of a compound. *In vitro* half-lives of compounds may be predicted from assays of microsomal half-life as described, for example, within Example 7 of U.S. Patent Application Publication Number 2005/0070547.

As noted above, preferred compounds provided herein are nontoxic. In general, the term "nontoxic" shall be understood in a relative sense and is intended to refer to any substance that has been approved by the United States Food and Drug Administration ("FDA") for administration to mammals (preferably humans) or, in keeping with established criteria, is susceptible to approval by the FDA for administration to mammals (preferably humans). In addition, a highly preferred nontoxic compound generally satisfies one or more of the following criteria: (1) does not substantially inhibit cellular ATP production; (2) does not significantly prolong heart QT intervals; (3) does not cause substantial liver enlargement, or (4) does not cause substantial release of liver enzymes.

As used herein, a compound that does not substantially inhibit cellular ATP production is a compound that satisfies the criteria set forth in Example 8 of U.S. Patent Application Publication Number 2005/0070547. In other words, cells treated as described therein with 100 μM of such a compound exhibit ATP levels that are at least 50% of the ATP levels detected in untreated cells. In more highly preferred embodiments, such cells exhibit ATP levels that are at least 80% of the ATP levels detected in untreated cells.

A compound that does not significantly prolong heart QT intervals is a compound that does not result in a statistically significant prolongation of heart QT intervals (as determined by electrocardiography) in guinea pigs, minipigs or dogs upon administration of a dose that yields a serum concentration equal to the EC_{50} or IC_{50} for the compound. In certain preferred embodiments, a dose of 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1, 5, 10, 40 or 50 mg/kg administered parenterally or orally does not result in a statistically significant prolongation of heart QT intervals.

A compound does not cause substantial liver enlargement if daily treatment of laboratory rodents (*e.g.*, mice or rats) for 5-10 days with a dose that yields a serum concentration equal to the EC_{50} or IC_{50} for the compound results in an increase in

liver to body weight ratio that is no more than 100% over matched controls. In more highly preferred embodiments, such doses do not cause liver enlargement of more than 75% or 50% over matched controls. If non-rodent mammals (*e.g.*, dogs) are used, such doses should not result in an increase of liver to body weight ratio of more than 50%, preferably not more than 25%, and more preferably not more than 10% over matched untreated controls. Preferred doses within such assays include 0.01, 0.05. 0.1, 0.5, 1, 5, 10, 40 or 50 mg/kg administered parenterally or orally.

Similarly, a compound does not promote substantial release of liver enzymes if administration of twice the minimum dose that yields a serum concentration equal to the EC_{50} or IC_{50} at $P2X_7$ for the compound does not elevate serum levels of ALT, LDH or AST in laboratory animals (*e.g.*, rodents) by more than 100% over matched mock-treated controls. In more highly preferred embodiments, such doses do not elevate such serum levels by more than 75% or 50% over matched controls. Alternatively, a compound does not promote substantial release of liver enzymes if, in an *in vitro* hepatocyte assay, concentrations (in culture media or other such solutions that are contacted and incubated with hepatocytes *in vitro*) that are equal to the EC_{50} or IC_{50} for the compound do not cause detectable release of any of such liver enzymes into culture medium above baseline levels seen in media from matched mock-treated control cells. In more highly preferred embodiments, there is no detectable release of any of such liver enzymes into culture medium above baseline levels when such compound concentrations are five-fold, and preferably ten-fold the EC_{50} or IC_{50} for the compound.

In other embodiments, certain preferred compounds do not inhibit or induce microsomal cytochrome P450 enzyme activities, such as CYP1A2 activity, CYP2A6 activity, CYP2C9 activity, CYP2C19 activity, CYP2D6 activity, CYP2E1 activity or CYP3A4 activity at a concentration equal to the EC_{50} or IC_{50} at $P2X_7$ for the compound.

Certain preferred compounds are not clastogenic (*e.g.*, as determined using a mouse erythrocyte precursor cell micronucleus assay, an Ames micronucleus assay, a spiral micronucleus assay or the like) at a concentration equal the EC_{50} or IC_{50} for the compound. In other embodiments, certain preferred compounds do not induce sister chromatid exchange (*e.g.*, in Chinese hamster ovary cells) at such concentrations.

For detection purposes, as discussed in more detail below, modulators provided herein may be isotopically-labeled or radiolabeled. Substitution with heavy

isotopes such as deuterium (*i.e.*, ^{2}H) can afford certain therapeutic advantages resulting from greater metabolic stability, for example increased in vivo half-life or reduced dosage requirements and, hence, may be preferred in some circumstances.

PREPARATION OF HETEROARYL AMIDE ANALOGUES

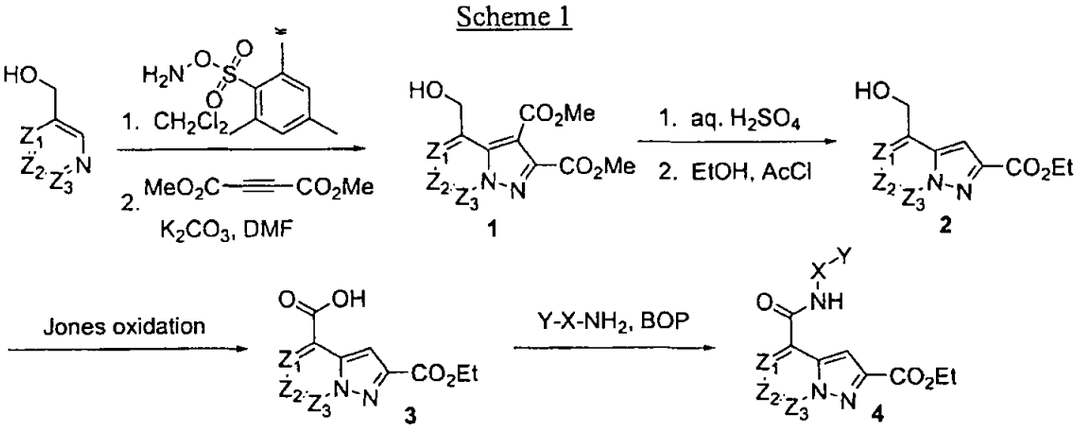
Heteroaryl amide analogues may generally be prepared using standard synthetic methods. Starting materials are commercially available from suppliers such as Sigma-Aldrich Corp. (St. Louis, MO), or may be synthesized from commercially available precursors using established protocols. By way of example, a synthetic route similar to that shown in any of the following Schemes may be used, together with synthetic methods known in the art of synthetic organic chemistry. In some cases, protecting groups may be required during preparation. Such protecting groups can be removed by methods well known to those of ordinary skill in the art, such as methods described in Greene and Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis" (2nd Edition, John Wiley & Sons, 1991). In some cases, further organic transformations may be performed using methods well known to those of ordinary skill in the art, such as methods described in Richard C. Larock, "Comprehensive Organic Transformation," (VCH Publisher, Inc. 1989). Each variable in the following Schemes refers to any group consistent with the description of the compounds provided herein. Representative reaction conditions for use within the following schemes are provided in the Examples.

Certain abbreviations used in the following Schemes and elsewhere herein include:

Ac	acetyl
aq.	aqueous
ACN	acetonitrile
BOP	benzotriazol-1-yloxytris(dimethylamino)phosphonium hexafluorophosphate
Bu	butyl
δ	chemical shift
DCM	dichloromethane
DIBAL-H	diisobutylaluminium hydride
DMF	dimethylformamide
DMSO	dimethylsulfoxide

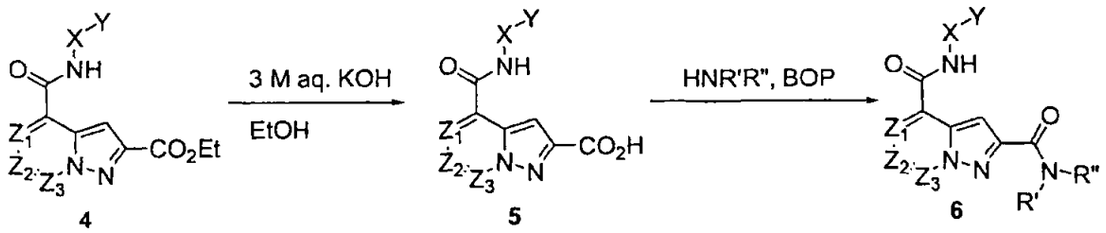
Et	ethyl
EtOAc	ethyl acetate
EtOH	ethanol
h	hour(s)
^{1}H NMR	proton nuclear magnetic resonance
Hz	hertz
iPr	isopropyl
MeOH	methanol
min	minute(s)
Ms	methanesulfonyl
(M+1)	mass + 1
Ph_3P	triphenylphosphine
PTLC	preparative thin layer chromatography
rt	room temperature
TEA	triethylamine
TFA	trifluoroacetic acid
THF	tetrahydrofuran

Scheme 1



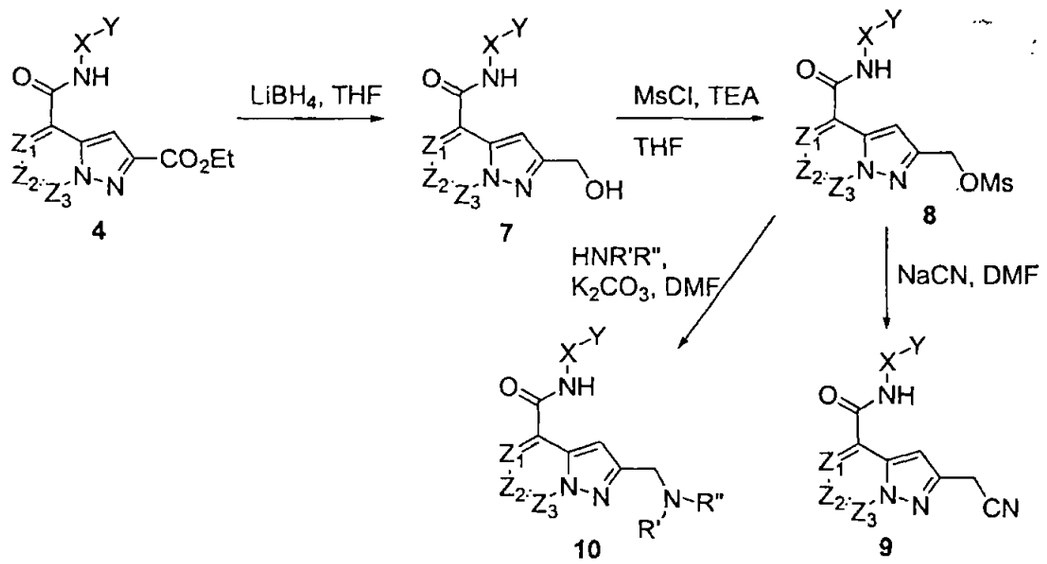
In Scheme I, dicarboxylic acid dimethyl ester 1 is prepared by reaction of the 3-pyridylcarbinol analogue with *O*-mesitylenesulfonylhydroxylamine in the presence of acetylene dicarboxylic acid dimethyl ester. Reaction of **1** with aqueous H_2SO_4 affords the 4-hydroxymethylpyrazolo[1,5-*a*]pyridine-2-carboxylic acid analogue, which is converted to the ethyl ester **2** by reaction with acetyl chloride in absolute ethanol. Oxidation of **2** with Jones reagent yields carboxylic acid **3**, which is converted to amide **4** by reaction with an appropriate amine in the presence of BOP.

Scheme II



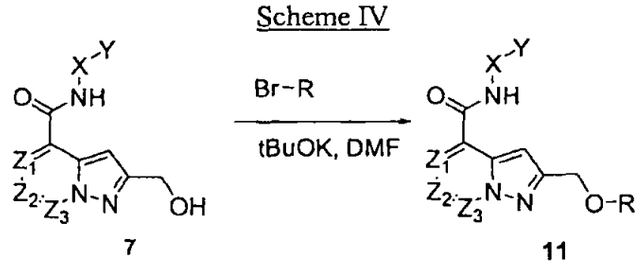
In Scheme II, ester **4** is hydrolyzed to yield the carboxylic acid **5**. Amide **6** is prepared by reaction with an appropriate amine in the presence of BOP.

Scheme III



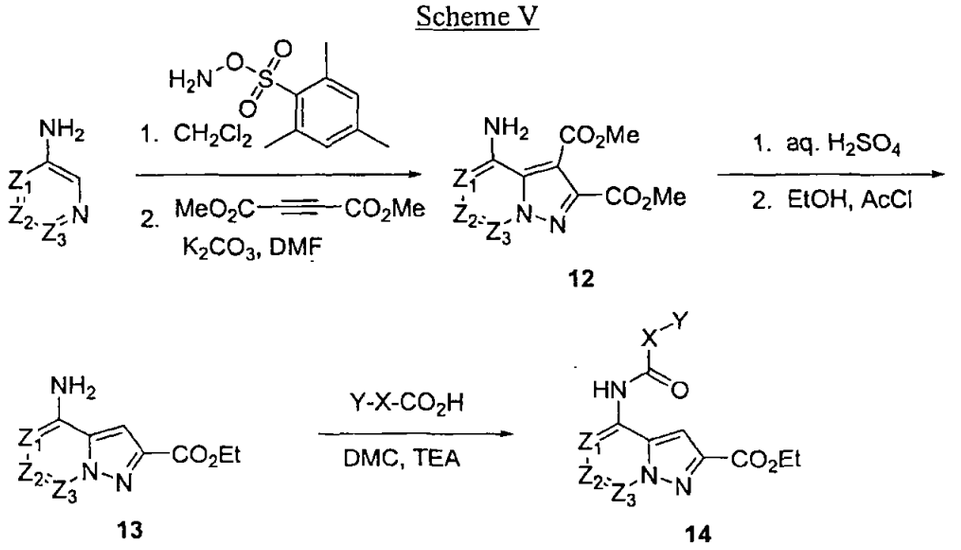
In Scheme III, ester **4** is reduced to the alcohol **7**, which is converted to mesylate **8**. Mesylate **8** is then used to generate amine **10** by reaction with an appropriate amine in the presence of potassium carbonate, or the cyanomethyl derivative **9** by reaction with sodium cyanide.

Scheme IV



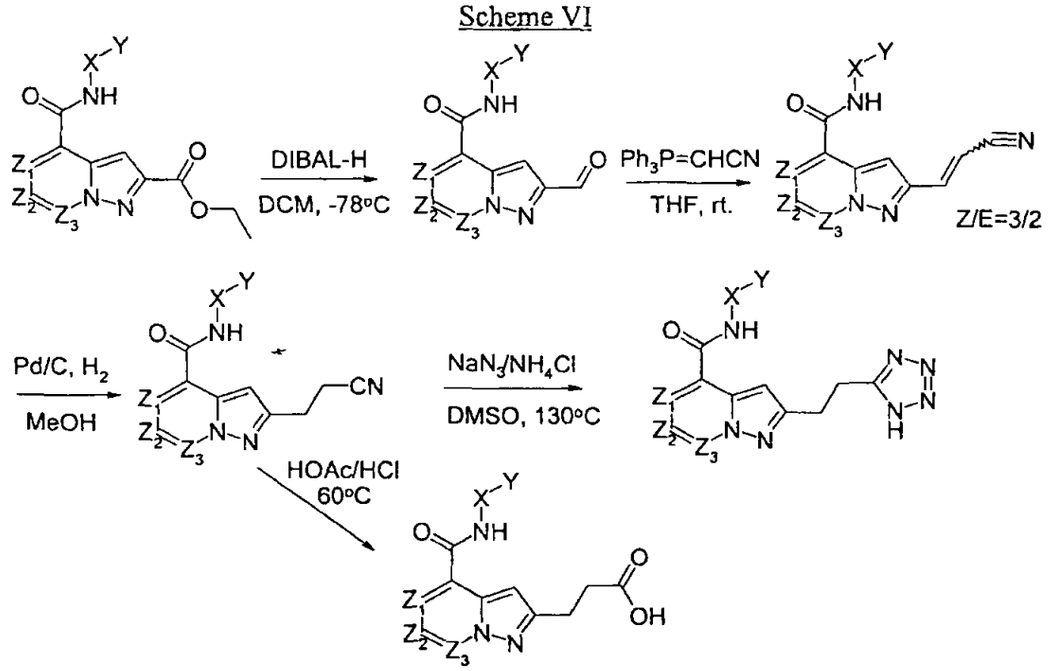
Scheme IV illustrates the conversion of alcohol 7 to any of a variety of ether moieties 11, via reaction with the appropriate brominated reagent.

Scheme V



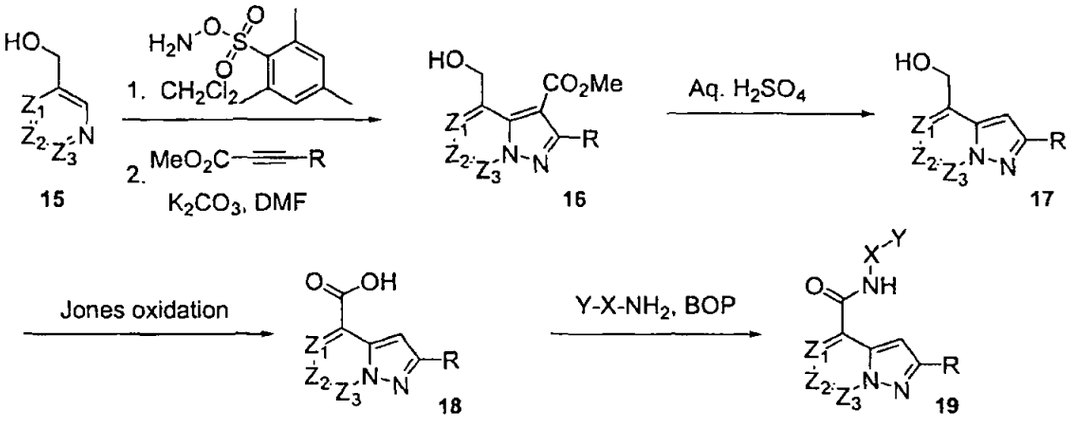
In Scheme V, dicarboxylic acid dimethyl ester **12** is prepared by reaction of the 3-aminopyridine analogue with *O*-mesitylenesulfonylhydroxylamine. Reaction of **12** with aqueous H_2SO_4 affords 4-aminopyrazolo[1,5-*a*]pyridine-2-carboxylic acid analogue **13**, which is converted to the amide **14** by reaction with an appropriate carboxylic acid.

Scheme VI



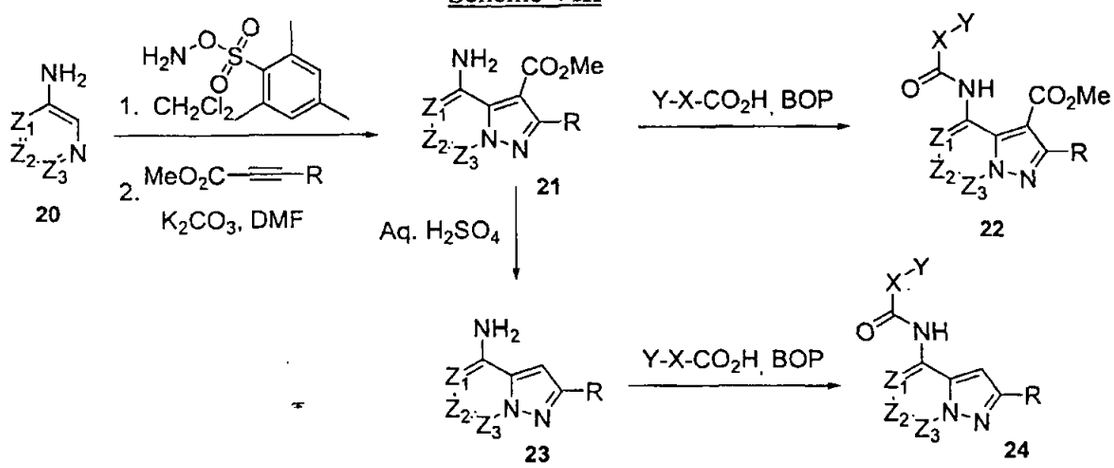
Scheme VI illustrates the synthesis of certain representative compounds of Formula I from ester **4**, discussed above. The formyl derivative is generated by reaction with DIBAL, and is converted to the cyanovinyl derivative (a mixture of Z and E isomers) using Ph_3P=CHCN. Isomers can be separated using standard techniques. Reduction of the cyanovinyl compound (*e.g.*, with Pd/C and 1 atm H_2) yields the cyanoethyl derivative, which can be converted to a variety of compounds, including the carboxylic acid and the tetrazolylethyl compounds illustrated.

Scheme VII



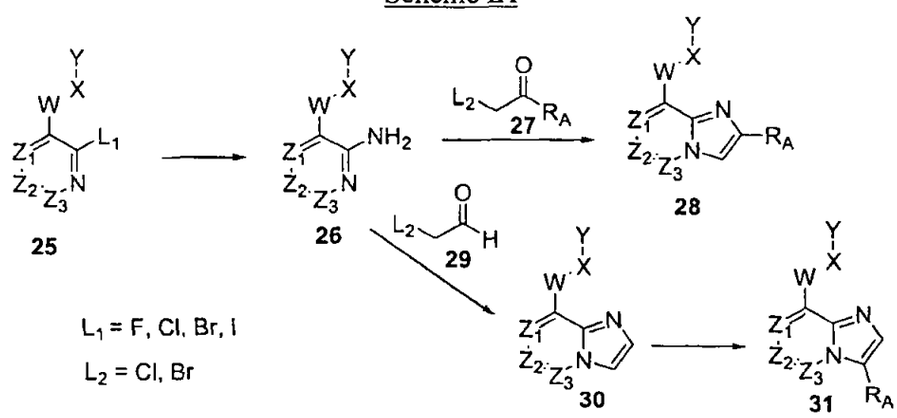
In Scheme VII, carboxylic acid methyl ester **16** is prepared by reaction of the 3-pyridylcarbinol analogue **15** with *O*-mesitylenesulfonylhydroxylamine in the presence of a propargyllic ester derivative, wherein R is hydrogen or any suitable group such as alkyl, cycloalkyl, heterocycloalkyl, aryl or heteroaryl each of which is optionally substituted. Reaction of **16** with aqueous H_2SO_4 affords the 4-hydroxymethylpyrazolo[1,5-*a*]pyridine **17**. Oxidation of **17** with Jones reagent yields carboxylic acid **18**, which is converted to amide **19** by reaction with an appropriate amine in the presence of BOP.

Scheme VIII



In Scheme VIII, carboxylic acid methyl ester **21** is prepared by reaction of the 3-aminopyridine analogue **20** with *O*-mesitylenesulfonylhydroxylamine in the presence of a methyl parpargellate derivative. Reaction of **21** with aqueous H_2SO_4 affords 4-aminopyrazolo[1,5-*a*]pyridine-2-carboxylic acid analogue **23**, which is converted to the amide **24** by reaction with an appropriate carboxylic acid. Alternatively **21** can be directly reacted with an appropriate carboxylic acid to give amide **22.**

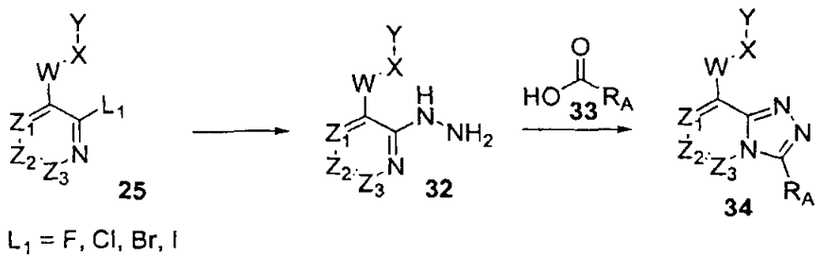
Scheme IX



In Scheme IX, a nitrogen-containing heterocyclic halide **25** is converted to the aminoheterocycle **26** using any suitable method, such as ammonia in EtOH at rt or elevated temperature. Amino heterocycle **26** is reacted with an alpha halocarbonyl compound to give the substituted imidazoheterocycle **28**. The alpha haloaldehyde **29** is reacted with aminoheterocycle **26** to give the unsubstituted imidazo heterocycle **30,** which can be subsequently converted to substituted imidazoheterocycle **31** through

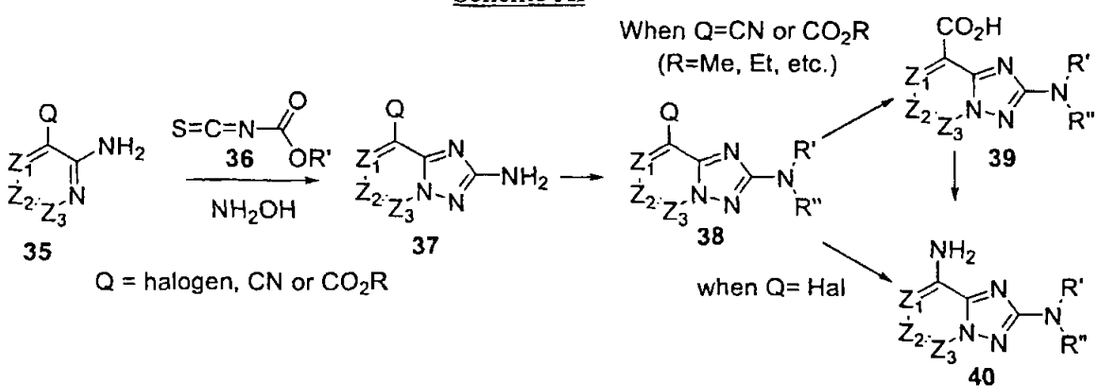
electrophilic substitution of the imidazo functionality (*e.g.*, via bromination to give the bromide), which can be converted to the desired imidazoheterocycle **31**.

Scheme X



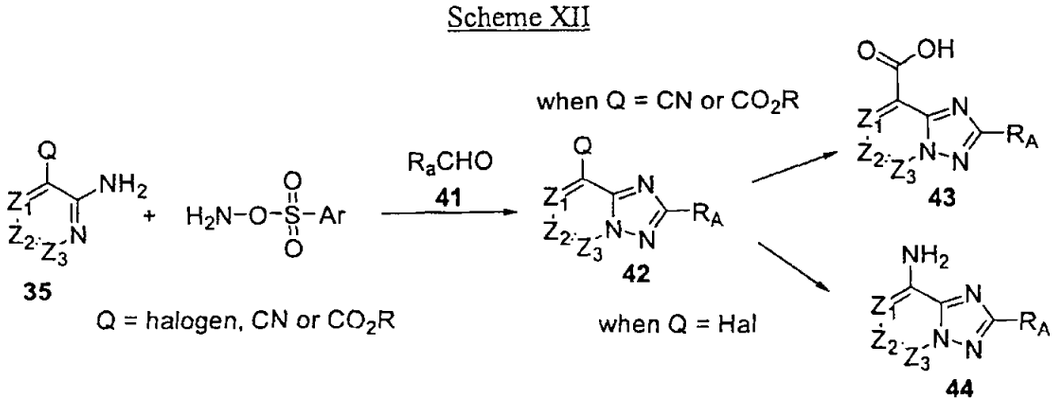
In Scheme X, a nitrogen-containing heterocyclic halide **25** is converted to the hydrazinoheterocycle **32** using any suitable method, such as, for example, reacting hydrazine in EtOH at RT or elevated temperature. Intermediate **32** is converted to triazoloheterocycle **34** by reacting with acid **33** without solvent or with solvent at rt or elevated temperature.

Scheme XI



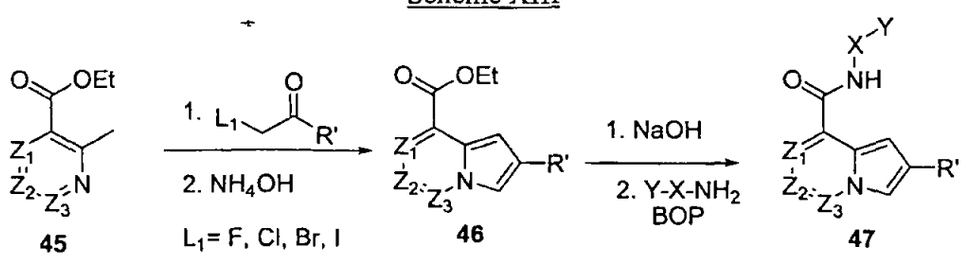
In Scheme XI, **35** is reacted with isothiocyanate **36** to form **37**. The primary amine in compound **37** can be mono or di alylated or acylated to give compound **38.** Hydrolysis of **38** (when Q is CN or an ester) under acidic conditions gives **39**. Alternatively, if Q is a halogen, treatment of **38** with ammonium gives **40**. **39** and **40** are readily converted to compounds of Formula I as illustrated above.

Scheme XII



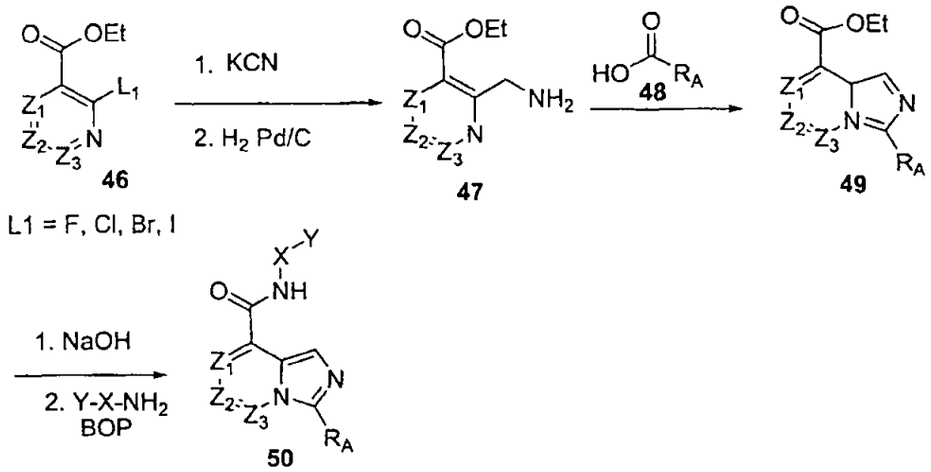
In Scheme XII, **35** is reacted with, for example, O-mesitylenesulfonyhydroxylamine at rt. Aldehyde **41** and aqueous KOH are then added to give intermediate **42**. Hydrolysis of **42** (when Q is CN or an ester) under acidic conditions gives **43**. Alternatively, if Q is a halogen, treatment of **42** with ammonium gives **44**. **43** and **44** are readily converted to compounds of Formula I as illustrated above.

Scheme XIII



In Scheme XIII, a methyl substituted nitrogen heterocycle carboxylate ester **45** is reacted with an alpha-halocarbonyl compound and the intermediate slat is treated with ammonium hydroxide to give the ester **46**. This is converted to the target compound **47** through standard conditions.

Scheme XIV



In Scheme XIV, a halogenated a nitrogen containing heterocyclic halide **46** is reacted with potassium cyanide and the resulting nitrile subjected to hydrogenation to give **47**. **47** is condensed with acid **48** to give the heterocycle **49**, which is converted to **50** by methods described herein.

In certain embodiments, a compound provided herein may contain one or more asymmetric carbon atoms, so that the compound can exist in different stereoisomeric forms. Such forms can be, for example, racemates or optically active forms. As noted above, all stereoisomers are encompassed by the present invention. Nonetheless, it may be desirable to obtain single enantiomers (*i.e.*, optically active forms). Standard methods for preparing single enantiomers include asymmetric synthesis and resolution of the racemates. Resolution of the racemates can be accomplished, for example, by conventional methods such as crystallization in the presence of a resolving agent, or chromatography using, for example a chiral HPLC column.

Compounds may be radiolabeled by carrying out their synthesis using precursors comprising at least one atom that is a radioisotope. Each radioisotope is preferably carbon (*e.g.*, ^{14}C), hydrogen (*e.g.*, ^{3}H), sulfur (*e.g.*, ^{35}S), or iodine (*e.g.*, ^{125}I). Tritium labeled compounds may also be prepared catalytically via platinum-catalyzed exchange in tritiated acetic acid, acid-catalyzed exchange in tritiated trifluoroacetic acid, or heterogeneous-catalyzed exchange with tritium gas using the compound as substrate. In addition, certain precursors may be subjected to tritium-halogen exchange with tritium gas, tritium gas reduction of unsaturated bonds, or reduction using sodium borotritide, as appropriate. Preparation of radiolabeled

compounds may be conveniently performed by a radioisotope supplier specializing in custom synthesis of radiolabeled probe compounds.

PHARMACEUTICAL COMPOSITIONS

The present invention also provides pharmaceutical compositions comprising one or more compounds provided herein, together with at least one physiologically acceptable carrier or excipient. Pharmaceutical compositions may comprise, for example, one or more of water, buffers (*e.g.*, sodium bicarbonate, neutral buffered saline or phosphate buffered saline), ethanol, mineral oil, vegetable oil, dimethylsulfoxide, carbohydrates (*e.g.*, glucose, mannose, sucrose, starch, mannitol or dextrans), proteins, adjuvants, polypeptides or amino acids such as glycine, antioxidants, chelating agents such as EDTA or glutathione and/or preservatives. In addition, other active ingredients may (but need not) be included in the pharmaceutical compositions provided herein.

Pharmaceutical compositions may be formulated for any appropriate manner of administration, including, for example, topical, oral, nasal, rectal, vaginal, or parenteral administration. The term parenteral as used herein includes subcutaneous, intradermal, intravascular (*e.g.*, intravenous), intramuscular, spinal, intracranial, intrathecal and intraperitoneal injection, as well as any similar injection or infusion technique. In certain embodiments, the compositions may be prepared as suppositories. In other embodiments, compositions suitable for oral use are preferred. Such compositions include, for example, tablets, troches, lozenges, aqueous or oily suspensions, dispersible powders or granules, emulsion, hard or soft capsules, or syrups or elixirs. Within yet other embodiments, pharmaceutical compositions may be formulated as a lyophilizate. Formulation for topical administration may be preferred for certain conditions (*e.g.*, in the treatment of skin conditions such as burns or itch). Formulation for direct administration into the bladder (intravesicular administration) may be preferred for treatment of urinary incontinence and overactive bladder.

Compositions intended for oral use may further comprise one or more components such as sweetening agents, flavoring agents, coloring agents and/or preserving agents in order to provide appealing and palatable preparations. Tablets contain the active ingredient in admixture with physiologically acceptable excipients that are suitable for the manufacture of tablets. Such excipients include, for example,

inert diluents (*e.g.*, calcium carbonate, sodium carbonate, lactose, calcium phosphate or sodium phosphate), granulating and disintegrating agents (*e.g.*, corn starch or alginic acid), binding agents (*e.g.*, starch, gelatin or acacia) and lubricating agents (*e.g.*, magnesium stearate, stearic acid or talc). Tablets may be formed using standard techniques, including dry granulation, direct compression and wet granulation. The tablets may be uncoated or they may be coated by known techniques.

Formulations for oral use may also be presented as hard gelatin capsules wherein the active ingredient is mixed with an inert solid diluent (*e.g.*, calcium carbonate, calcium phosphate or kaolin), or as soft gelatin capsules wherein the active ingredient is mixed with water or an oil medium (*e.g.*, peanut oil, liquid paraffin or olive oil).

Aqueous suspensions contain the active material(s) in admixture with suitable excipients, such as suspending agents (*e.g.*, sodium carboxymethylcellulose, methylcellulose, hydropropylmethylcellulose, sodium alginate, polyvinylpyrrolidone, gum tragacanth and gum acacia); and dispersing or wetting agents (*e.g.*, naturally-occurring phosphatides such as lecithin, condensation products of an alkylene oxide with fatty acids such as polyoxyethylene stearate, condensation products of ethylene oxide with long chain aliphatic alcohols such as heptadecaethyleneoxycetanol, condensation products of ethylene oxide with partial esters derived from fatty acids and a hexitol such as polyoxyethylene sorbitol monooleate, or condensation products of ethylene oxide with partial esters derived from fatty acids and hexitol anhydrides such as polyethylene sorbitan monooleate). Aqueous suspensions may also comprise one or more preservatives, such as ethyl or n-propyl p-hydroxybenzoate, one or more coloring agents, one or more flavoring agents, and/or one or more sweetening agents, such as sucrose or saccharin.

Oily suspensions may be formulated by suspending the active ingredient(s) in a vegetable oil (*e.g.*, arachis oil, olive oil, sesame oil or coconut oil) or in a mineral oil such as liquid paraffin. The oily suspensions may contain a thickening agent such as beeswax, hard paraffin or cetyl alcohol. Sweetening agents such as those set forth above, and/or flavoring agents may be added to provide palatable oral preparations. Such suspensions may be preserved by the addition of an anti-oxidant such as ascorbic acid.

Dispersible powders and granules suitable for preparation of an aqueous suspension by the addition of water provide the active ingredient in admixture with a

dispersing or wetting agent, a suspending agent and one or more preservatives. Suitable dispersing or wetting agents and suspending agents are exemplified by those already mentioned above. Additional excipients, such as sweetening, flavoring and coloring agents, may also be present.

Pharmaceutical compositions may also be formulated as oil-in-water emulsions. The oily phase may be a vegetable oil (*e.g.*, olive oil or arachis oil), a mineral oil (*e.g.*, liquid paraffin) or a mixture thereof. Suitable emulsifying agents include naturally-occurring gums (*e.g.*, gum acacia or gum tragacanth), naturally-occurring phosphatides (*e.g.*, soy bean lecithin, and esters or partial esters derived from fatty acids and hexitol), anhydrides (*e.g.*, sorbitan monoleate) and condensation products of partial esters derived from fatty acids and hexitol with ethylene oxide (*e.g.*, polyoxyethylene sorbitan monoleate). An emulsion may also comprise one or more sweetening and/or flavoring agents.

Syrups and elixirs may be formulated with sweetening agents, such as glycerol, propylene glycol, sorbitol or sucrose. Such formulations may also comprise one or more demulcents, preservatives, flavoring agents and/or coloring agents.

Formulations for topical administration typically comprise a topical vehicle combined with active agent(s), with or without additional optional components. Suitable topical vehicles and additional components are well known in the art, and it will be apparent that the choice of a vehicle will depend on the particular physical form and mode of delivery. Topical vehicles include water; organic solvents such as alcohols (*e.g.*, ethanol or isopropyl alcohol) or glycerin; glycols (*e.g.*, butylene, isoprene or propylene glycol); aliphatic alcohols (*e.g.*, lanolin); mixtures of water and organic solvents and mixtures of organic solvents such as alcohol and glycerin; lipid-based materials such as fatty acids, acylglycerols (including oils, such as mineral oil, and fats of natural or synthetic origin), phosphoglycerides, sphingolipids and waxes; protein-based materials such as collagen and gelatin; silicone-based materials (both non-volatile and volatile); and hydrocarbon-based materials such as microsponges and polymer matrices. A composition may further include one or more components adapted to improve the stability or effectiveness of the applied formulation, such as stabilizing agents, suspending agents, emulsifying agents, viscosity adjusters, gelling agents, preservatives, antioxidants, skin penetration enhancers, moisturizers and sustained release materials. Examples of such components are described in Martindale--The Extra Pharmacopoeia (Pharmaceutical Press, London 1993) and

Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21st ed., Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA (2005). Formulations may comprise microcapsules, such as hydroxymethylcellulose or gelatin-microcapsules, liposomes, albumin microspheres, microemulsions, nanoparticles or nanocapsules.

A topical formulation may be prepared in any of a variety of physical forms including, for example, solids, pastes, ointments, creams, foams, lotions, gels, powders, aqueous liquids and emulsions. The physical appearance and viscosity of such pharmaceutically acceptable forms can be governed by the presence and amount of emulsifier(s) and viscosity adjuster(s) present in the formulation. Solids are generally firm and non-pourable and commonly are formulated as bars or sticks, or in particulate form; solids can be opaque or transparent, and optionally can contain solvents, emulsifiers, moisturizers, emollients, fragrances, dyes/colorants, preservatives and other active ingredients that increase or enhance the efficacy of the final product. Creams and lotions are often similar to one another, differing mainly in their viscosity; both lotions and creams may be opaque, translucent or clear and often contain emulsifiers, solvents, and viscosity adjusting agents, as well as moisturizers, emollients, fragrances, dyes/colorants, preservatives and other active ingredients that increase or enhance the efficacy of the final product. Gels can be prepared with a range of viscosities, from thick or high viscosity to thin or low viscosity. These formulations, like those of lotions and creams, may also contain solvents, emulsifiers, moisturizers, emollients, fragrances, dyes/colorants, preservatives and other active ingredients that increase or enhance the efficacy of the final product. Liquids are thinner than creams, lotions, or gels and often do not contain emulsifiers. Liquid topical products often contain solvents, emulsifiers, moisturizers, emollients, fragrances, dyes/colorants, preservatives and other active ingredients that increase or enhance the efficacy of the final product.

Suitable emulsifiers for use in topical formulations include, but are not limited to, ionic emulsifiers, cetearyl alcohol, non-ionic emulsifiers like polyoxyethylene oleyl ether, PEG-40 stearate, ceteareth-12, ceteareth-20, ceteareth-30, ceteareth alcohol, PEG-100 stearate and glyceryl stearate. Suitable viscosity adjusting agents include, but are not limited to, protective colloids or non-ionic gums such as hydroxyethylcellulose, xanthan gum, magnesium aluminum silicate, silica, microcrystalline wax, beeswax, paraffin, and cetyl palmitate. A gel composition may be formed by the addition of a gelling agent such as chitosan, methyl cellulose, ethyl

cellulose, polyvinyl alcohol, polyquaterniums, hydroxyethylcellulose, hydroxypropylcellulose, hydroxypropylmethylcellulose, carbomer or ammoniated glycyrrhizinate. Suitable surfactants include, but are not limited to, nonionic, amphoteric, ionic and anionic surfactants. For example, one or more of dimethicone copolyol, polysorbate 20, polysorbate 40, polysorbate 60, polysorbate 80, lauramide DEA, cocamide DEA, and cocamide MEA, oleyl betaine, cocamidopropyl phosphatidyl PG-dimonium chloride, and ammonium laureth sulfate may be used within topical formulations. Suitable preservatives include, but are not limited to, antimicrobials such as methylparaben, propylparaben, sorbic acid, benzoic acid, and formaldehyde, as well as physical stabilizers and antioxidants such as vitamin E, sodium ascorbate/ascorbic acid and propyl gallate. Suitable moisturizers include, but are not limited to, lactic acid and other hydroxy acids and their salts, glycerin, propylene glycol, and butylene glycol. Suitable emollients include lanolin alcohol, lanolin, lanolin derivatives, cholesterol, petrolatum, isostearyl neopentanoate and mineral oils. Suitable fragrances and colors include, but are not limited to, FD&C Red No. 40 and FD&C Yellow No. 5. Other suitable additional ingredients that may be included a topical formulation include, but are not limited to, abrasives, absorbents, anti-caking agents, anti-foaming agents, anti-static agents, astringents (*e.g.*, witch hazel, alcohol and herbal extracts such as chamomile extract), binders/excipients, buffering agents, chelating agents, film forming agents, conditioning agents, propellants, opacifying agents, pH adjusters and protectants.

An example of a suitable topical vehicle for formulation of a gel is: hydroxypropylcellulose (2.1%); 70/30 isopropyl alcohol/water (90.9%); propylene glycol (5.1%); and Polysorbate 80 (1.9%). An example of a suitable topical vehicle for formulation as a foam is: cetyl alcohol (1.1%); stearyl alcohol (0.5%; Quaternium 52 (1.0%); propylene glycol (2.0%); Ethanol 95 PGF3 (61.05%); deionized water (30.05%); P75 hydrocarbon propellant (4.30%). All percents are by weight.

Typical modes of delivery for topical compositions include application using the fingers; application using a physical applicator such as a cloth, tissue, swab, stick or brush; spraying (including mist, aerosol or foam spraying); dropper application; sprinkling; soaking; and rinsing.

A pharmaceutical composition may be prepared as a sterile injectible aqueous or oleaginous suspension. The compound(s) provided herein, depending on the vehicle and concentration used, can either be suspended or dissolved in the vehicle.

Such a composition may be formulated according to the known art using suitable dispersing, wetting agents and/or suspending agents such as those mentioned above. Among the acceptable vehicles and solvents that may be employed are water, 1,3-butanediol, Ringer's solution and isotonic sodium chloride solution. In addition, sterile, fixed oils may be employed as a solvent or suspending medium. For this purpose any bland fixed oil may be employed, including synthetic mono- or diglycerides. In addition, fatty acids such as oleic acid find use in the preparation of injectible compositions, and adjuvants such as local anesthetics, preservatives and/or buffering agents can be dissolved in the vehicle.

Pharmaceutical compositions may also be formulated as suppositories (*e.g.*, for rectal administration). Such compositions can be prepared by mixing the drug with a suitable non-irritating excipient that is solid at ordinary temperatures but liquid at the rectal temperature and will therefore melt in the rectum to release the drug. Suitable excipients include, for example, cocoa butter and polyethylene glycols.

Compositions for inhalation typically can be provided in the form of a solution, suspension or emulsion that can be administered as a dry powder or in the form of an aerosol using a conventional propellant (*e.g.*, dichlorodifluoromethane or trichlorofluoromethane).

Pharmaceutical compositions may be formulated for release at a pre-determined rate. Instantaneous release may be achieved, for example, via sublingual administration (*i.e.*, administration by mouth in such a way that the active ingredient(s) are rapidly absorbed via the blood vessels under the tongue rather than via the digestive tract). Controlled release formulations (*i.e.*, formulations such as a capsule, tablet or coated tablet that slows and/or delays release of active ingredient(s) following administration) may be administered by, for example, oral, rectal or subcutaneous implantation, or by implantation at a target site. In general, a controlled release formulation comprises a matrix and/or coating that delays disintegration and absorption in the gastrointestinal tract (or implantation site) and thereby provides a delayed action or a sustained action over a longer period. One type of controlled-release formulation is a sustained-release formulation, in which at least one active ingredient is continuously released over a period of time at a constant rate. Preferably, the therapeutic agent is released at such a rate that blood (*e.g.*, plasma) concentrations are maintained within the therapeutic range, but below toxic levels, over a period of time that is at least 4 hours, preferably at least 8 hours, and more

preferably at least 12 hours. Such formulations may generally be prepared using well known technology and administered by, for example, oral, rectal or subcutaneous implantation, or by implantation at the desired target site. Carriers for use within such formulations are biocompatible, and may also be biodegradable; preferably the formulation provides a relatively constant level of modulator release. The amount of modulator contained within a sustained release formulation depends upon, for example, the site of implantation, the rate and expected duration of release and the nature of the condition to be treated or prevented.

Controlled release may be achieved by combining the active ingredient(s) with a matrix material that itself alters release rate and/or through the use of a controlled-release coating. The release rate can be varied using methods well known in the art, including (a) varying the thickness or composition of coating, (b) altering the amount or manner of addition of plasticizer in a coating, (c) including additional ingredients, such as release-modifying agents, (d) altering the composition, particle size or particle shape of the matrix, and (e) providing one or more passageways through the coating. The amount of modulator contained within a sustained release formulation depends upon, for example, the method of administration (*e.g.*, the site of implantation), the rate and expected duration of release and the nature of the condition to be treated or prevented.

The matrix material, which itself may or may not serve a controlled-release function, is generally any material that supports the active ingredient(s). For example, a time delay material such as glyceryl monosterate or glyceryl distearate may be employed. Active ingredient(s) may be combined with matrix material prior to formation of the dosage form (*e.g.*, a tablet, a capsule, a troche, or a sprinkle). Alternatively, or in addition, active ingredient(s) may be coated on the surface of a particle, granule, sphere, microsphere, bead or pellet that comprises the matrix material. Such coating may be achieved by conventional means, such as by dissolving the active ingredient(s) in water or other suitable solvent and spraying. Optionally, additional ingredients are added prior to coating (*e.g.*, to assist binding of the active ingredient(s) to the matrix material or to color the solution). The matrix may then be coated with a barrier agent prior to application of controlled-release coating. Multiple coated matrix units may, if desired, be encapsulated to generate the final dosage form.

In certain embodiments, a controlled release is achieved through the use of a controlled release coating (*i.e.*, a coating that permits release of active ingredient(s) at a controlled rate in aqueous medium). The controlled release coating should be a strong, continuous film that is smooth, capable of supporting pigments and other additives, non-toxic, inert and tack-free. Coatings that regulate release of the modulator include pH-independent coatings, pH-dependent coatings (which may be used to release modulator in the stomach) and enteric coatings (which allow the formulation to pass intact through the stomach and into the small intestine, where the coating dissolves and the contents are absorbed by the body). It will be apparent that multiple coatings may be employed (*e.g.*, to allow release of a portion of the dose in the stomach and a portion further along the gastrointestinal tract). For example, a portion of active ingredient(s) may be coated over an enteric coating, and thereby released in the stomach, while the remainder of active ingredient(s) in the matrix core is protected by the enteric coating and released further down the GI tract. pH dependent coatings include, for example, shellac, cellulose acetate phthalate, polyvinyl acetate phthalate, hydroxypropylmethylcellulose phthalate, methacrylic acid ester copolymers and zein.

In certain embodiments, the coating is a hydrophobic material, preferably used in an amount effective to slow the hydration of the gelling agent following administration. Suitable hydrophobic materials include alkyl celluloses (*e.g.*, ethylcellulose or carboxymethylcellulose), cellulose ethers, cellulose esters, acrylic polymers (*e.g.*, poly(acrylic acid), poly(methacrylic acid), acrylic acid and methacrylic acid copolymers, methyl methacrylate copolymers, ethoxy ethyl methacrylates, cyanoethyl methacrylate, methacrylic acid alkamide copolymer, poly(methyl methacrylate), polyacrylamide, ammonio methacrylate copolymers, aminoalkyl methacrylate copolymer, poly(methacrylic acid anhydride) and glycidyl methacrylate copolymers) and mixtures of the foregoing. Representative aqueous dispersions of ethylcellulose include, for example, AQUACOAT® (FMC Corp., Philadelphia, PA) and SURELEASE® (Colorcon, Inc., West Point, PA), both of which can be applied to the substrate according to the manufacturer's instructions. Representative acrylic polymers include, for example, the various EUDRAGIT® (Rohm America, Piscataway, NJ) polymers, which may be used singly or in combination depending on the desired release profile, according to the manufacturer's instructions.

The physical properties of coatings that comprise an aqueous dispersion of a hydrophobic material may be improved by the addition or one or more plasticizers. Suitable plasticizers for alkyl celluloses include, for example, dibutyl sebacate, diethyl phthalate, triethyl citrate, tributyl citrate and triacetin. Suitable plasticizers for acrylic polymers include, for example, citric acid esters such as triethyl citrate and tributyl citrate, dibutyl phthalate, polyethylene glycols, propylene glycol, diethyl phthalate, castor oil and triacetin.

Controlled-release coatings are generally applied using conventional techniques, such as by spraying in the form of an aqueous dispersion. If desired, the coating may comprise pores or channels or to facilitate release of active ingredient. Pores and channels may be generated by well known methods, including the addition of organic or inorganic material that is dissolved, extracted or leached from the coating in the environment of use. Certain such pore-forming materials include hydrophilic polymers, such as hydroxyalkylcelluloses (*e.g.*, hydroxypropylmethylcellulose), cellulose ethers, synthetic water-soluble polymers (*e.g.*, polyvinylpyrrolidone, cross-linked polyvinylpyrrolidone and polyethylene oxide), water-soluble polydextrose, saccharides and polysaccharides and alkali metal salts. Alternatively, or in addition, a controlled release coating may include one or more orifices, which may be formed my methods such as those described in US Patent Nos. 3,845,770; 4,034,758; 4,077,407; 4,088,864; 4,783,337 and 5,071,607. Controlled-release may also be achieved through the use of transdermal patches, using conventional technology (*see, e.g.*, US Patent No. 4,668,232).

Further examples of controlled release formulations, and components thereof, may be found, for example, in US Patent Nos. 4,572,833; 4,587,117; 4,606,909; 4,610,870; 4,684,516; 4,777,049; 4,994,276; 4,996,058; 5,128,143; 5,202,128; 5,376,384; 5,384,133; 5,445,829; 5,510,119; 5,618,560; 5,643,604; 5,891,474; 5,958,456; 6,039,980; 6,143,353; 6,126,969; 6,156,342; 6,197,347; 6,387,394; 6,399,096; 6,437,000; 6,447,796; 6,475,493; 6,491,950; 6,524,615; 6,838,094; 6,905,709; 6,923,984; 6,923,988; and 6,911,217; each of which is hereby incorporated by reference for its teaching of the preparation of controlled release dosage forms.

In addition to or together with the above modes of administration, a compound provided herein may be conveniently added to food or drinking water (*e.g.*, for administration to non-human animals including companion animals (such as dogs and cats) and livestock). Animal feed and drinking water compositions may be

formulated so that the animal takes in an appropriate quantity of the composition along with its diet. It may also be convenient to present the composition as a premix for addition to feed or drinking water.

Compounds are generally administered in a therapeutically effective amount. Preferred systemic doses are no higher than 50 mg per kilogram of body weight per day (*e.g.*, ranging from about 0.001 mg to about 50 mg per kilogram of body weight per day), with oral doses generally being about 5-20 fold higher than intravenous doses (*e.g.*, ranging from 0.01 to 40 mg per kilogram of body weight per day).

The amount of active ingredient that may be combined with the carrier materials to produce a single dosage unit will vary depending, for example, upon the patient being treated, the particular mode of administration and any other co-administered drugs. Dosage units generally contain between from about 10 μg to about 500 mg of active ingredient. Optimal dosages may be established using routine testing, and procedures that are well known in the art.

Pharmaceutical compositions may be packaged for treating conditions responsive to $P2X_7$ modulation (*e.g.*, pain, inflammation, neurodegeneration or other condition described herein). Packaged pharmaceutical compositions generally include (i) a container holding a pharmaceutical composition that comprises at least one modulator as described herein and (ii) instructions (*e.g.*, labeling or a package insert) indicating that the contained composition is to be used for treating a condition responsive to $P2X_7$ modulation in the patient.

METHODS OF USE

$P2X_7$ modulators provided herein may be used to alter activity and/or activation of $P2X_7$ in a variety of contexts, both *in vitro* and *in vivo*. Within certain aspects, $P2X_7$ antagonists may be used to inhibit the binding of ligand agonist to $P2X_7$ *in vitro* or *in vivo*. In general, such methods comprise the step of contacting a $P2X_7$ with one or more $P2X_7$ modulators provided herein, in the presence of ligand in aqueous solution and under conditions otherwise suitable for binding of the ligand to $P2X_7$. The modulator(s) are generally present at a concentration that is sufficient to alter $P2X_7$-mediated signal transduction (using an assay provided in Example 4). The $P2X_7$ may be present in solution or suspension (*e.g.*, in an isolated membrane or cell preparation), or in a cultured or isolated cell. Within certain embodiments, the $P2X_7$ is expressed by a cell that is present in a patient, and the aqueous solution is a body

fluid. Preferably, one or more modulators are administered to an animal in an amount such that the modulator is present in at least one body fluid of the animal at a therapeutically effective concentration that is 20 micromolar or less, 10 micromolar or less, 5 micromolar or less, or 1 micromolar or less. For example, such compounds may be administered at a therapeutically effective dose that is less than 20 mg/kg body weight, preferably less than 5 mg/kg and, in some instances, less than 1 mg/kg.

Also provided herein are methods for modulating, preferably reducing, cellular $P2X_7$ activation and/or activity, such as signal-transducing activity (*e.g.*, calcium conductance). Such modulation may be achieved by contacting a $P2X_7$ (either *in vitro* or *in vivo*) with one or more modulators provided herein under conditions suitable for binding of the modulator(s) to $P2X_7$. The modulator(s) are generally present at a concentration that is sufficient to alter $P2X_7$-mediated signal transduction as described herein. $P2X_7$ may be present in solution or suspension, in a cultured or isolated cell preparation or in a cell within a patient. For example, the cell may be contacted *in vivo* in an animal. Modulation of signal tranducing activity may be assessed by detecting an effect on calcium ion conductance (also referred to as calcium mobilization or flux). Modulation of signal transducing activity may alternatively be assessed by detecting an alteration of a symptom (*e.g.*, pain or inflammation) of a patient being treated with one or more modulators provided herein.

$P2X_7$ modulator(s) provided herein are preferably administered to a patient (*e.g.*, a human) orally or topically, and are present within at least one body fluid of the animal while modulating $P2X_7$ signal-transducing activity.

The present invention further provides methods for treating conditions responsive to $P2X_7$ modulation. Within the context of the present invention, the term "treatment" encompasses both disease-modifying treatment and symptomatic treatment, either of which may be prophylactic (*i.e.*, before the onset of symptoms, in order to prevent, delay or reduce the severity of symptoms) or therapeutic (*i.e.*, after the onset of symptoms, in order to reduce the severity and/or duration of symptoms). A condition is "responsive to $P2X_7$ modulation" if it is characterized by inappropriate activity of a $P2X_7$, regardless of the amount of $P2X_7$ agonist present locally, and/or if modulation of $P2X_7$ activity results in alleviation of the condition or a symptom thereof. Such conditions include, for example, pain, inflammation, cardiovascular disorders, ocular disorders, neurodegenerative disorders and respiratory disorders (such as cough, asthma, chronic obstructive pulmonary disease, chronic bronchitis,

cystic fibrosis and rhinitis, including allergic rhinitis, such as seasonal an perennial rhinitis, and non-allergic rhinitis), fibrosis as well as other conditions described in more detail below. Such conditions may be diagnosed and monitored using criteria that have been established in the art. Patients may include humans, domesticated companion animals and livestock, with dosages as described above.

Treatment regimens may vary depending on the compound used and the particular condition to be treated; however, for treatment of most disorders, a frequency of administration of 4 times daily or less is preferred. In general, a dosage regimen of 2 times daily is more preferred, with once a day dosing particularly preferred. For the treatment of acute pain, a single dose that rapidly reaches effective concentrations is desirable. It will be understood, however, that the specific dose level and treatment regimen for any particular patient will depend upon a variety of factors including the activity of the specific compound employed, the age, body weight, general health, sex, diet, time of administration, route of administration, and rate of excretion, drug combination and the severity of the particular disease undergoing therapy. In general, the use of the minimum dose sufficient to provide effective therapy is preferred. Patients may generally be monitored for therapeutic effectiveness using medical or veterinary criteria suitable for the condition being treated or prevented.

Pain that may be treated using the modulators provided herein includes, for example, acute, chronic, inflammatory, and neuropathic pain. Specific pain indications that may be treated as described herein include, but are not limited to, pain associated with osteoarthritis or rheumatoid arthritis; various neuropathic pain syndromes (such as post-herpetic neuralgia, trigeminal neuralgia, reflex sympathetic dystrophy, diabetic neuropathy, Guillian Barre syndrome, fibromyalgia, oral neuropathic pain, phantom limb pain, post-mastectomy pain, peripheral neuropathy, myofascial pain syndromes, MS-related neuropathy, HIV or AIDS-related neuropathy, and chemotherapy-induced and other iatrogenic neuropathies); visceral pain, (such as that associated with gastroesophageal reflux disease (GERD), irritable bowel syndrome, inflammatory bowel disease, pancreatitis, intestinal gas, gynecological disorders (*e.g.*, menstrual pain, dysmenorrhoea, pain associated with cystitis, labor pain, chronic pelvic pain, chronic prostitis, endometriosis, heart pain and abdominal pain), and urological disorders); dental pain (*e.g.*, toothache, denture pain, nerve root pain, pain resulting from periodontal disease, and pain due to dental

surgery including operative and post-operative pain); headache (*e.g.*, headaches involving peripheral nerve activity, sinus headache, cluster headache (*i.e.*, migranous neuralgia) tension headache, migraine, temporomandibular pain and maxillary sinus pain); stump pain; meralgia paresthetica; burning-mouth syndrome; pain associated with nerve and root damage, including as pain associated with peripheral nerve disorders (*e.g.*, nerve entrapment and brachial plexus avulsions, amputation, peripheral neuropathies including bilateral peripheral neuropathy, tic douloureux, atypical facial pain, nerve root damage, and arachnoiditis), causalgia, neuritis (including, for example, sciatic neuritis, peripheral neuritis, polyneuritis, optic neuritis, postfebrile neuritis, migrating neuritis, segmental neuritis and Gombault's neuritis), neuronitis, neuralgias (*e.g.*, those mentioned above, cervicobrachial neuralgia, cranial neuralgia, geniculate neuralgia, glossopharyngial neuralgia, migranous neuralgia, idiopathic neuralgia, intercostals neuralgia, mammary neuralgia, mandibular joint neuralgia, Morton's neuralgia, nasociliary neuralgia, occipital neuralgia, red neuralgia, Sluder's neuralgia, splenopalatine neuralgia, supraorbital neuralgia and vidian neuralgia); surgery-related pain; musculoskeletal pain; central nervous system pain (*e.g.*, pain due to brain stem damage, sciatica, and ankylosing spondylitis); and spinal pain, including spinal cord injury-related pain.

Further pain conditions that can be treated as described herein include Charcot's pains, ear pain, muscle pain, eye pain, orofacial pain (*e.g.*, odontalgia), carpel tunnel syndrome, acute and chronic back pain (*e.g.*, lower back pain), gout, scar pain, hemorrhoidal pain, dyspeptic pains, angina, nerve root pain, "non-painful" neuropathies, complex regional pain syndrome, homotopic pain and heterotopic pain – including pain associated with carcinoma, often referred to as cancer-associated pain (*e.g.*, in patients with bone cancer), pain (and inflammation) associated with venom exposure (*e.g.*, due to snake bite, spider bite, or insect sting) and trauma-associated pain (*e.g.*, post-surgical pain, episiotomy pain, pain from cuts, musculoskeletal pain, bruises and broken bones, and burn pain, especially primary hyperalgesia associated therewith). Additional pain conditions that may be treated as described herein include pain associated with autoimmune diseases or immunodeficiency disorders, hot flashes, burns, sunburn, and pain that results from exposure to heat, cold or external chemical stimuli.

Conditions associated with inflammation and/or immune system disorders that may be treated using the modulators provided herein include, but are not limited to,

arthritis (including osteoarthritis, rheumatoid arthritis, psoriatic arthritis, Reiter's syndrome, gout, traumatic arthritis, rubella arthritis, rheumatoid spondylitis, gouty arthritis and juvenile arthritis); cystic fibrosis; uveitis; systemic lupus erythematosus (and associated glomerulonephritis); spondyloarthropathies; psoriasis; scleritis; allergic conditions (including allergic reactions, allergic rhinitis, allergic contact hypersensitivity, allergic dermatitis, eczema and contact dermatitis), reperfusion injury (*e.g.*, cardiac and renal reperfusion injury), respiratory system disorders (including hyper-responsiveness of the airway, cough, asthma (*e.g.*, to prevent or decrease the severity of both acute early phase asthma attack and the late phase reactions that follow such an asthma attack; including bronchial, allergic, intrinsic, extrinsic, exercise-induced, drug-induced (*e.g.*, aspirin or NSAID-induced) and dust-induced asthma), reactive airway disease, emphysema, acute (adult) respiratory distress syndrome (ARDS), bronchitis (*e.g.*, infectious and eosinophilic bronchitis), bronchiectasis, chronic pulmonary obstructive disorder (COPD), chronic pulmonary inflammatory disease, silicosis, pulmonary sarcoidosis, farmer's lung, hypersensitivity pneumonitis and lung fibrosis), viral infection, fungal infection, bacterial infection, Crohn's disease, glomerulornephritis, HIV infection and AIDS, irritable bowel syndrome, inflammatory bowel disease, dermatomyositis, multiple sclerosis, pemphigus, pemphigoid, scleroderma, myasthenia gravis, autoimmune hemolytic and thrombocytopenic states, Goodpasture's syndrome (and associated glomerulonephritis and pulmonary hemorrhage), tissue graft rejection, hyperacute rejection of transplanted organs, allograft rejection, organ transplant toxicity, neutropenia, sepsis, septic shock, endotoxic shock, conjunctivitis shock, toxic shock syndrome, Alzheimer's disease, inflammation associated with severe burns, lung injury, systemic inflammatory response syndrome (SIRS), neonatal-onset multisystem inflammatory disease (NOMID), Hashimoto's thyroiditis, Grave's disease, Addison's disease, idiopathic thrombocytopaenic purprua, eosinophilic fascitis, hyper-IgE syndrome, antiphospholipid syndrome, leprosy, Sezary syndrome, paraneoplastic syndromes, Muckle-Wells syndrome, lichen planus, familial cold autoinflammatory syndrome (FCAS), colitis, ruptured abdominal aortic aneurysm and multiple organ dysfunction syndrome (MODS). Also included are pathologic sequellae associated with insulin-dependent diabetes mellitus (including diabetic retinopathy), lupus nephropathy, Heyman nephritis, membranous nephritis and other forms of glomerulonephritis, macular degeneration, contact sensitivity responses, and inflammation resulting from

contact of blood with artificial surfaces as occurs, for example, during extracorporeal circulation of blood (*e.g.*, during hemodialysis or via a heart-lung machine, for example, in association with vascular surgery such as coronary artery bypass grafting or heart valve replacement) such as extracorporeal post-dialysis syndrome, or in association with contact with other artificial vessel or container surfaces (*e.g.*, ventricular assist devices, artificial heart machines, transfusion tubing, blood storage bags, plasmapheresis, plateletpheresis, and the like).

Still further conditions that may be treated using the modulators provided herein include:

Cardiovascular disorders, such as cardiovascular disease, stroke, cerebral ischemia, myocardial infarction, atherosclerosis, ischemic heart disease, ischemia-reperfusion injury, aortic aneurysm, and congestive heart failure;

Ocular disorders such as glaucoma;

Neurological disorders (*e.g.*, neurodegeneration), such as neurodegenerative conditions associated with progressive CNS disorders, including, but not limited to, Alzheimer's disease, Parkinson's disease, amyotrophic lateral sclerosis, Huntington's disease, Creutzfeldt-Jakob disease, dementia with Lewy bodies, traumatic brain injury, spinal cord injury, neurotrauma, cerebral amyloid angiopathy, and encephalitis; epilepsy and seizure disorders; multiple sclerosis and other demyelinating syndromes; cerebral atherosclerosis; vasculitis; temporal arteritis; myasthenia gravis; neurosarcoidosis; and central and peripheral nervous system complications of malignant, infectious or autoimmune processes; the modulators provided herein may also be used to promote neuroregeneration;

Centrally-mediated neuropsychiatric disorders, such as depression, depression mania, bipolar disease, anxiety, schizophrenia, eating disorders, sleep disorders and cognition disorders; and

Other disorders, such as cirrhosis, interstitial fibrosis, prostate, bladder and bowel dysfunction (*e.g.*, urinary incontinence, urinary hesitancy, rectal hypersensitivity, fecal incontinence and benign prostatic hypertrophy); itch/pruritus; obesity; lipid disorders; cancer; hypertension; renal disorders; abnormal wound healing; myoblastic leukemia; diabetes; meningitis; varicose veins; muscle degeneration; cachexia; restenosis; thrombosis; cerebral malaria; disorders of bones and joints (*e.g.*, osteoporosis, bone resorption disease, loosening of artificial joint implants,

and others listed above); epidermolysis bullosa; ocular angiogenesis; corneal injury; corneal scarring; and tissue ulceration.

Modulators provided herein may also be used for neuroprotection of the optic nerve (*e.g.*, toinhibit the death of retinal ganglion cells in a patient).

Within other aspects, modulators provided herein may be used within combination therapy for the treatment of conditions responsive to $P2X_7$ modulation (*e.g.*, conditions involving pain and/or inflammatory components). Such conditions include, for example, autoimmune disorders and pathologic autoimmune responses known to have an inflammatory component including, but not limited to, arthritis (especially rheumatoid arthritis), psoriasis, Crohn's disease, lupus erythematosus, irritable bowel syndrome, tissue graft rejection, and hyperacute rejection of transplanted organs. Other such conditions include trauma (*e.g.*, injury to the head or spinal cord), cardio- and cerebro-vascular disease and certain infectious diseases.

Within such combination therapy, a modulator is administered to a patient along with a second therapeutic agent (*e.g.*, an analgesic and/or anti-inflammatory agent). The modulator and second therapeutic agent may be present in the same pharmaceutical composition, or may be administered separately in either order. Anti-inflammatory agents include, for example, non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), non-specific and cyclooxygenase-2 (COX-2) specific cyclooxgenase enzyme inhibitors, gold compounds, corticosteroids, methotrexate, leflunomide, cyclosporine A, IM gold, minocycline, azathioprine, tumor necrosis factor (TNF) receptor antagonists, soluble TNF alpha receptor (etanercept), anti-TNF alpha antibodies (*e.g.*, infliximab and adalimumab), anti-C5 antibodies, interleukin-1 (IL-1) receptor antagonists (*e.g.*, anakinra or IL-1 trap), IL-18 binding protein, CTLA4-Ig (*e.g.*, abatacept), anti-human IL-6 receptor monoclonal antibody (*e.g.*, tocilizumab), LFA-3-Ig fusion proteins (*e.g.*, alefacept), LFA-1 antagonists, anti-VLA4 monoantibody (*e.g.*, natalizumab), anti-CD11a monoclonal antibody, anti-CD20 monoclonal antibody (*e.g.*, rituximab), anti-IL-12 monoclonal antibody, anti-IL-15 monoclonal antibody, CDP 484, CDP 870, chemokine receptor antagonists, selective iNOS inhibitors, p38 kinase inhibitors, integrin antagonists, angiogenesis inhibitors, and TMI-1 dual inhibitors. Further anti-inflammatory agents include meloxicam, rofecoxib, celecoxib, etoricoxib, parecoxib, valdecoxib and tilicoxib.

NSAIDs include, but are not limited to, ibuprofen, flurbiprofen, naproxen or naproxen sodium, diclofenac, combinations of diclofenac sodium and misoprostol,

sulindac, oxaprozin, diflunisal, piroxicam, indomethacin, etodolac, fenoprofen calcium, ketoprofen, sodium nabumetone, sulfasalazine, tolmetin sodium, and hydroxychloroquine. One class of NSAIDs consists of compounds that inhibit cyclooxygenase (COX) enzymes; such compounds include celecoxib and rofecoxib. NSAIDs further include salicylates such as acetylsalicylic acid or aspirin, sodium salicylate, choline and magnesium salicylates, and salsalate, as well as corticosteroids such as cortisone, dexamethasone, methylprednisolone, prednisolone, prednisolone sodium phosphate, and prednisone.

Suitable dosages for $P2X_7$ modulator within such combination therapy are generally as described above. Dosages and methods of administration of anti-inflammatory agents can be found, for example, in the manufacturer's instructions in the *Physician's Desk Reference*. In certain embodiments, the combination administration of a modulator with an anti-inflammatory agent results in a reduction of the dosage of the anti-inflammatory agent required to produce a therapeutic effect (*i.e.*, a decrease in the minimum therapeutically effective amount). Thus, preferably, the dosage of anti-inflammatory agent in a combination or combination treatment method is less than the maximum dose advised by the manufacturer for administration of the anti-inflammatory agent without combination administration of a modulator. More preferably this dosage is less than ¾, even more preferably less than ½, and highly preferably, less than ¼ of the maximum dose, while most preferably the dose is less than 10% of the maximum dose advised by the manufacturer for administration of the anti-inflammatory agent(s) when administered without combination administration of a modulator. It will be apparent that the dosage amount of modulator component of the combination needed to achieve the desired effect may similarly be reduced by the co-administraction of the anti-inflammatory agent.

In certain preferred embodiments, the combination administration of a modulator with an anti-inflammatory agent is accomplished by packaging one or more modulators and one or more anti-inflammatory agents in the same package, either in separate containers within the package or in the same contained as a mixture of one or more modulators and one or more anti-inflammatory agents. Preferred mixtures are formulated for oral administration (*e.g.*, as pills, capsules, tablets or the like). In certain embodiments, the package comprises a label bearing indicia indicating that the one or more modulators and one or more anti-inflammatory agents are to be taken together for the treatment of an inflammatory pain condition.

Within further aspects, modulators provided herein may be used in combination with one or more additional pain relief medications. Certain such medications are also anti-inflammatory agents, and are listed above. Other such medications are analgesic agents, including narcotic agents which typically act at one or more opioid receptor subtypes (*e.g.*, μ, κ and/or δ), preferably as agonists or partial agonists. Such agents include opiates, opiate derivatives and opioids, as well as pharmaceutically acceptable salts and hydrates thereof. Specific examples of narcotic analgesics include, within preferred embodiments, alfentanil, alphaprodine, anileridine, bezitramide, buprenorphine, butorphanol, codeine, diacetyldihydromorphine, diacetylmorphine, dihydrocodeine, diphenoxylate, ethylmorphine, fentanyl, heroin, hydrocodone, hydromorphone, isomethadone, levomethorphan, levorphane, levorphanol, meperidine, metazocine, methadone, methorphan, metopon, morphine, nalbuphine, opium extracts, opium fluid extracts, powdered opium, granulated opium, raw opium, tincture of opium, oxycodone, oxymorphone, paregoric, pentazocine, pethidine, phenazocine, piminodine, propoxyphene, racemethorphan, racemorphan, sulfentanyl, thebaine and pharmaceutically acceptable salts and hydrates of the foregoing agents.

Other examples of narcotic analgesic agents include acetorphine, acetyldihydrocodeine, acetylmethadol, allylprodine, alphracetylmethadol, alphameprodine, alphamethadol, benzethidine, benzylmorphine, betacetylmethadol, betameprodine, betamethadol, betaprodine, clonitazene, codeine methylbromide, codeine-N-oxide, cyprenorphine, desomorphine, dextromoramide, diampromide, diethylthiambutene, dihydromorphine, dimenoxadol, dimepheptanol, dimethylthiamubutene, dioxaphetyl butyrate, dipipanone, drotebanol, ethanol, ethylmethylthiambutene, etonitazene, etorphine, etoxeridine, furethidine, hydromorphinol, hydroxypethidine, ketobemidone, levomoramide, levophenacylmorphan, methyldesorphine, methyldihydromorphine, morpheridine, morphine, methylpromide, morphine methylsulfonate, morphine-N-oxide, myrophin, naloxone, naltyhexone, nicocodeine, nicomorphine, noracymethadol, norlevorphanol, normethadone, normorphine, norpipanone, pentazocaine, phenadoxone, phenampromide, phenomorphan, phenoperidine, piritramide, pholcodine, proheptazoine, properidine, propiran, racemoramide, thebacon, trimeperidine and the pharmaceutically acceptable salts and hydrates thereof.

Further specific representative analgesic agents include, for example acetaminophen (paracetamol); aspirin and other NSAIDs described above; NR2B antagonists; bradykinin antagonists; anti-migraine agents; anticonvulsants such as oxcarbazepine and carbamazepine; antidepressants (such as TCAs, SSRIs, SNRIs, substance P antagonists, etc.); spinal blocks; pentazocine/naloxone; meperidine; levorphanol; buprenorphine; hydromorphone; fentanyl; sufentanyl; oxycodone; oxycodone/acetaminophen, nalbuphine and oxymorphone. Still further analgesic agents include CB2-receptor agonists, such as AM1241, capsaicin receptor antagonists and compounds that bind to the $\alpha 2\delta$ subunit of voltage-gated calcium channels, such as gabapentin and pregabalin.

Representative anti-migraine agents for use in combination with a modulator provided herein include CGRP antagonists, capsaicin receptor antagonists, ergotamines and 5-HT_1 agonists, such as sumatripan, naratriptan, zolmatriptan and rizatriptan.

Within still further aspects, modulators provided herein may be used, for example, in the treatment of pulmonary disorders such as asthma, in combination with one or more beta(2)-adrenergic receptor agonists or leukotriene receptor antagonists (*e.g.*, agents that inhibits the cysteinyl leukotriene $CysLT_1$ receptor). $CysLT_1$ antagonists include montelukast, zafirlukast, and pranlukast.

For retinal neuroprotection and treatment of ocular disorders, $P2X_7$ modulators may be administered to the eye in combination with, for example, one or more of an agent that inhibits ATP release, an agent that enhances conversion of ATP to adenosine and/or an agent that inhibits Ca^{+2} influx into retinal ganglion cells. Such agents include, for example, adenosine A_3 receptor agonists, adenosine A_1 receptor agonists, ectonucleotidase agonists, Ca^{+2} chelating agents and NMDA receptor antagonists.

Suitable dosages for $P2X_7$ modulator within such combination therapy are generally as described above. Dosages and methods of administration of other pain relief medications can be found, for example, in the manufacturer's instructions in the *Physician's Desk Reference*. In certain embodiments, the combination administration of a modulator with one or more additional pain medications results in a reduction of the dosage of each therapeutic agent required to produce a therapeutic effect (*e.g.*, the dosage or one or both agent may less than ¾, less than ½, less than ¼ or less than 10% of the maximum dose listed above or advised by the manufacturer).

For use in combination therapy, pharmaceutical compositions as described above may further comprise one or more additional medications as described above. In certain such compositions, the additional medication is an analgesic. Also provided herein are packaged pharmaceutical preparations comprising one or more modulators and one or more additional medications (*e.g.*, analgesics) in the same package. Such packaged pharmaceutical preparations generally include (i) a container holding a pharmaceutical composition that comprises at least one modulator as described herein; (ii) a container holding a pharmaceutical composition that comprises at least one additional medication (such as a pain relief and/or anti-inflammatory medication) as described above and (iii) instructions (*e.g.*, labeling or a package insert) indicating that the compositions are to be used simultaneously, separately or sequentially for treating or preventing a condition responsive to $P2X_7$ modulation in the patient (such as a condition in which pain and/or inflammation predominates).

Within separate aspects, the present invention provides a variety of non-pharmaceutical *in vitro* and *in vivo* uses for the modulator compounds provided herein. For example, such compounds may be labeled and used as probes for the detection and localization of $P2X_7$ (in samples such as cell preparations or tissue sections, preparations or fractions thereof). In addition, modulators provided herein that comprise a suitable reactive group (such as an aryl carbonyl, nitro or azide group) may be used in photoaffinity labeling studies of receptor binding sites. In addition, modulators provided herein may be used as positive controls in assays for receptor activity or as radiotracers (*e.g.*, in receptor mapping procedures). For example, a modulator compound may be labeled using any of a variety of well known techniques (*e.g.*, radiolabeled with a radionuclide such as tritium, as described herein), and used as a probe for receptor autoradiography (receptor mapping) of $P2X_7$ in cultured cells or tissue samples, which may be performed as described by Kuhar in sections 8.1.1 to 8.1.9 of Current Protocols in Pharmacology (1998) John Wiley & Sons, New York, which sections are incorporated herein by reference. Such receptor mapping procedures also include methods that can be used to characterize $P2X_7$ in living subjects, such as positron emission tomography (PET) imaging or single photon emission computerized tomography (SPECT).

The following Examples are offered by way of illustration and not by way of limitation. Unless otherwise specified all reagents and solvent are of standard

commercial grade and are used without further purification. Using routine modifications, the starting materials may be varied and additional steps employed to produce other compounds provided herein.

EXAMPLES

Mass spectroscopy data provided herein is Electrospray MS, obtained in positive ion mode. Unless otherwise specified, such data is obtained using a Micromass Time-of-Flight LCT (Waters Corp.; Milford, MA), equipped with a Waters 600 pump (Waters Corp.), Waters 996 photodiode array detector (Waters Corp.), and a Gilson 215 autosampler (Gilson, Inc.; Middleton, WI). MassLynx™ (Waters Corp.) version 4.0 software with OpenLynx Global Server™, OpenLynx™ and AutoLynx™ processing is used for data collection and analysis. MS conditions are as follows: capillary voltage = 3.5 kV; cone voltage = 30 V, desolvation and source temperature = 350°C and 120°C, respectively; mass range = 181-750 with a scan time of 0.22 seconds and an interscan delay of 0.05 seconds.

For data marked with a "§," mass spectroscopy data is obtained using a Waters ZMD II Mass Spectrometer (Waters Corp.), equipped with a Waters 600 pump (Waters Corp.), Waters 996 photodiode array detector (Waters Corp.), and a Gilson 215 autosampler (Gilson, Inc.; Middleton, WI). MassLynx™ (Waters Corp.) version 4.0 software with OpenLynx Global Server™, OpenLynx™ and AutoLynx™ processing is used for data collection and analysis. MS conditions are as follows: capillary voltage = 3.5 kV; cone voltage = 30 V, desolvation and source temperature = 250°C and 100°C, respectively; mass range = 100-800 with a scan time of 0.5 seconds and an interscan delay of 0.1 seconds.

For either method, sample volume of 1 microliter is injected onto a 50x4.6mm Chromolith SpeedROD RP-18e column (Merck KGaA, Darmstadt, Germany), and eluted using a 2-phase linear gradient at a flow rate of 6 ml/min. Sample is detected using total absorbance count over the 220-340nm UV range. The elution conditions are: Mobile Phase A - 95% water, 5% MeOH with 0.05% TFA; Mobile Phase B - 5% water, 95% MeOH with 0.025% TFA. The following gradient is used: 0-0.5 min 10-100%B, hold at 100%B to 1.2 min, return to 10%B at 1.21 min. Inject to inject cycle is 2.15 min.

Where indicated, retention times (R_T) are provided in minutes.

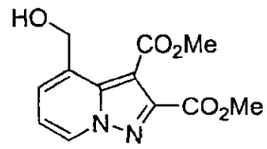
EXAMPLE 1

Preparation of Representative Heteroaryl Amide Analogues

This Example illustrates the preparation of representative heteroaryl amide analogues of Formula I, as well as certain intermediates useful in the preparation of such compounds. The $P2X_7$ IC_{50}, determined as described in Example 4A, is 2 micromolar or less for Compounds 1-15.

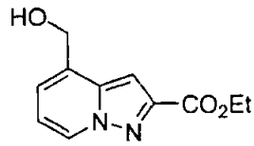
A. 4-[(ADAMANTAN-1-YLMETHYL)CARBAMOYL]PYRAZOLO[1,5-*A*]PYRIDINE-2-CARBOXYLIC ACID ETHYL ESTER (COMPOUND 1)

Step 1. 4-Hydroxymethylpyrazolo[1,5-*a*]pyridine-2,3-dicarboxylic acid dimethyl ester



A solution of *O*-mesitylenesulfonylhydroxylamine, ~30-35% water, (14.5 g, 52 mmol) and CH_2Cl_2 (100 mL) is added to a solution of 3-pyridylcarbinol (5.0 mL, 52 mmol) and CH_2Cl_2 (100 mL) at 0 °C dropwise over 40 min. After 30 min at 0 °C, the ice bath is removed and the solution is stirred at ambient temperature for 20 min. The volatiles are removed under reduced pressure to afford *N*-amino-3-hydroxymethylpyridinium mesityl sulfonate as a yellow oil. DMF (100 mL) and K_2CO_3 (15 g, 110 mmol) are added. The dark brown mixture is cooled in a water bath. Dimethyl acetylenedicarboxylate (6.9 mL, 56 mmol) are added dropwise over 10 min. After 15 min, the water bath is removed and the mixture is left to vigorously stir under air for 18 h. After filtering through Celite (CH_2Cl_2 rinse), the volatiles are removed under reduced pressure. The residue is slurried in EtOAc and the mixture is filtered through Celite (EtOAc rinse). The volatiles are removed under reduced pressure to afford a dark brown oil. Purification by flash column chromatography (2:1 hexanes:EtOAc to 1:1 hexanes:EtOAc) affords the title compound as a light yellow solid. LC-MS *m/z* ($M + Na^+$): 287.08[§].

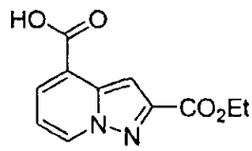
Step 2. 4-Hydroxymethylpyrazolo[1,5-*a*]pyridine-2-carboxylic acid ethyl ester



50% Aqueous H_2SO_4 (400 mL) is added to 4-hydroxymethylpyrazolo[1,5-*a*]pyridine-2,3-dicarboxylic acid dimethyl ester (11.6 g, 43.9 mmol) under air. The mixture is warmed to 80 °C. After 3.5 h, the solution is transferred to a 2 L flask and cooled to 0 °C. The solution is neutralized with 10 N aq. NaOH. The resulting slurry is acidified to pH 3 with 1 M aq. HCl. The volatiles are removed under reduced pressure. The residue is washed with 30% EtOH in CH_2Cl_2. The volatiles are removed under reduced pressure to afford the title compound as a tan solid. LC-MS *m/z* ($M + H^+$): 193.07.

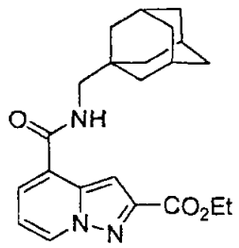
Acetyl chloride (9.5 mL, 130 mmol) is added to absolute ethanol (200 mL). After 30 min, the solution is poured into the flask containing 4-hydroxymethyl-pyrazolo[1,5-*a*]pyridine-2-carboxylic acid. The mixture is warmed to 50 °C for 3.5 h. After cooling to rt, the mixture is made basic with dropwise addition of sat. aq. $NaHCO_3$. The volatiles are removed under reduced pressure. The aqueous solution is extracted with EtOAc. The organics are dried over Na_2SO_4, filtered, and concentrated to afford the title compound as a tan powder. LC-MS *m/z* ($M + Na^+$): 242.98§.

Step 3. Pyrazolo[1,5-*a*]pyridine-2,4-dicarboxylic acid 2-ethyl ester



A 2.65 M solution of the Jones reagent (28 mL) is added dropwise over 40 min to a solution of 4-hydroxymethylpyrazolo[1,5-*a*]pyridine-2-carboxylic acid ethyl ester (5.30 g, 24.1 mmol) and acetone (240 mL) under air cooled by a water bath. After 20 min, isopropanol (3 mL) is added dropwise. After stirring for 30 min, the blue-green mixture is filtered (acetone rinse). The organics are concentrated under reduced pressure. The residue is dissolved in water. Et_2O is added and the mixture is stirred for 15 min. The resulting solid is collected by filtration. The filtrate is dried to afford the title compound as a tan solid. LC-MS *m/z* ($M + Na^+$): 257.02§.

Step 4. 4-[(Adamantan-1-ylmethyl)carbamoyl]pyrazolo[1,5-*a*]pyridine-2-carboxylic acid ethyl ester

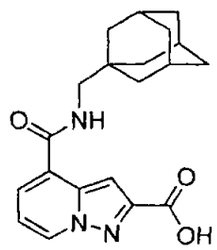


Compound 1

BOP (11 g, 24 mmol) is added to a slurry of pyrazolo[1,5-*a*]pyridine-2,4-dicarboxylic acid 2-ethyl ester (5.6 g, 24 mmol), adamantan-1-ylmethylamine (4.4 g, 27 mmol), iPr_2NEt (21 mL, 120 mmol), and DMF (240 mL) under N_2. The reaction vessel is sealed and the mixture is left to stir for 15 h. EtOAc (200 mL) is added. The solution is washed with 50% sat. aq. NH_4Cl (2 × 500 mL). The aqueous phases are extracted with EtOAc (3 × 200 mL). The combined organics are dried over Na_2SO_4, filtered, and concentrated. Purification by flash column chromatography (2:1 hexanes:EtOAc to 1:1 hexanes:EtOAc) affords the title compound as a tan solid. ^1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 8.62 (d, 1H), 7.60 (d, 1H), 7.44 (s, 1H), 7.00 (t, 1H), 6.23 (bs, 1H), 4.48 (q, 2H), 3.23 (d, 2H), 1.98 – 2.07 (m, 3H), 1.57 – 1.78 (m, 12H), 1.45 (t, 3H). LC-MS *m/z* ($M + H^+$): 382.2; R_T = 1.09 min.

B. N-(ADAMANTAN-1-YLMETHYL)-2-{[(3R)-3-AMINOPYRROLIDIN-1-YL]CARBONYL}PYRAZOLO[1,5-A]PYRIDINE-4-CARBOXAMIDE (COMPOUND 2)

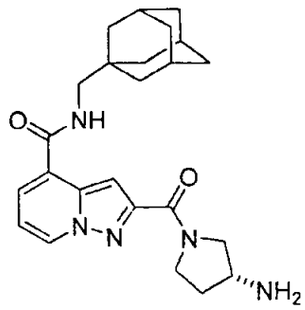
Step 1. 4-[(Adamantan-1-ylmethyl)carbamoyl]pyrazolo[1,5-*a*]pyridine-2-carboxylic acid



3 M Aqueous KOH (2.6 mL) is added to a mixture of 4-[(adamantan-1-ylmethyl)carbamoyl]-pyrazolo[1,5-*a*]pyridine-2-carboxylic acid ethyl ester (503 mg, 1.32 mmol) and EtOH (6.6 mL). After 4 h, the volatiles are removed under reduced pressure. The aqueous residue is diluted with water (2 mL) and then acidified with 1 M aq. HCl to ~pH 2. The solids are collected by filtration and then dried to afford the

title compound as a light yellow powder. ^{1}H NMR (400 MHz, $((CD_3)_2SO)$ δ: 8.86 (d, 1H), 8.50 (t, 1H), 7.71 (d, 1H), 7.26 (s, 1H), 7.12 (t, 1H), 3.00 (d, 2H), 1.88 – 1.98 (m, 3H), 1.48 – 1.69 (m, 12H). LC-MS *m/z* (M + H$^+$): 354.09.

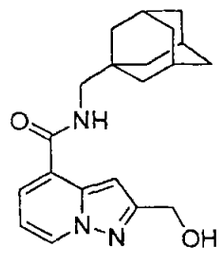
Step 2. N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-{[(3R)-3-aminopyrrolidin-1-yl]carbonyl}pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide



Compound 2

BOP (680 mg, 1.5 mmol) is added to a mixture of 4-[(adamantan-1-ylmethyl)carbamoyl]-pyrazolo[1,5-*a*]pyridine-2-carboxylic acid (417 mg, 1.18 mmol), *tert*-butyl (*R*)-pyrrolidin-3-ylcarbamate (242 mg, 1.30 mmol), iPr_2Net (620 μL, 3.6 mmol) and DMF (12 mL) under N_2. The reaction vessel is sealed and the solution is left to stir for 20 h. EtOAc (50 mL) is added. The solution is washed with H_2O (2 × 50 mL) and brine (50 mL). The organics are dried over Na_2SO_4, filtered, and concentrated. Purification by flash column chromatography (2% MeOH in CH_2Cl_2) affords (*R*)-(1-{4-[(adamantan-1-ylmethyl)carbamoyl]pyrazolo[1,5-*a*]-pyridine-2-carbonyl}pyrrolidin-3-yl)carbamic acid *tert*-butyl ester as a tan solid. MeOH (6.8 mL) and 4 M HCl in dioxane (1.7 mL) are added. After 20 h, the volatiles are removed under reduced pressure to afford a light tan solid. 15% Aqueous K_2CO_3 (50 mL) is added. The solution is extracted with EtOAc (5 × 50 mL). The combined organics are dried over Na_2SO_4, filtered, and concentrated. Purification by flash column chromatography (1% NH_4OH in 9:1 CH_2Cl_2:MeOH) affords the title compound as a tan foam. ^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ: 8.48 (ddd, 1H), 7.62 (dd, 1H), 7.22 (dd, 1H), 6.87 (t, 1H), 6.50 (bt, 1H), 3.42 – 4.20 (m, 5H), 3.20 (d, 2H), 2.14 (septet, 1H), 1.96 – 2.04 (m, 3H), 1.55 – 1.88 (m, 12H). LC-MS *m/z* (M + H$^+$): 422.3; R_T = 1.2 min.

C. N-(ADAMANTAN-1-YLMETHYL)-2-(HYDROXYMETHYL)PYRAZOLO[1,5-A]PYRIDINE-4-CARBOXAMIDE (COMPOUND 3)

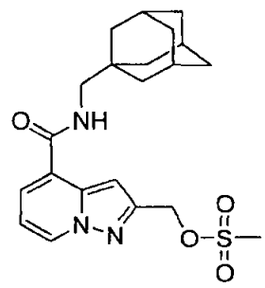


Compound 3

A 2.0 M solution of $LiBH_4$ in THF (5.8 mL) is added dropwise to a solution of 4-[(adamantan-1-ylmethyl)carbamoyl]pyrazolo[1,5-*a*]pyridine-2-carboxylic acid ethyl ester (2.01 g, 5.27 mmol) and THF (50 mL) at 0 °C under N_2. After 10 min, the ice bath is removed. After 3 h, additional 2.0 M solution of $LiBH_4$ in THF (2.0 mL) is added. After 4 h, sat. aq. NH_4Cl is added dropwise. The volatiles are removed under reduced pressure. H_2O (20 mL) is added and the solids are collected by filtration. The solids are slurried in MeOH (75 mL) and warmed to 50 °C for 4 h. The volatiles are removed under reduced pressure to afford the title compound as a light tan solid. ^1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ: 8.58 (ddd, 1H), 7.56 (dd, 1H), 6.92 (t, 1H), 6.90 (s, 1H), 4.80 (s, 2H), 3.12 (s, 2H), 1.96 – 2.04 (m, 3H), 1.62 – 1.84 (m, 12H). LC-MS *m/z* ($M + H^+$): 340.3; R_T = 1.27 min.

D. N-(ADAMANTAN-1-YLMETHYL)-2-{[(3R)-3-AMINOPYRROLIDIN-1-YL]METHYL}PYRAZOLO[1,5-A]PYRIDINE-4-CARBOXAMIDE (COMPOUND 4)

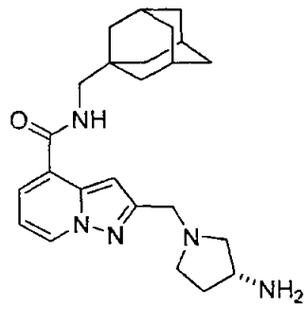
Step 1. Methanesulfonic acid 4-[(adamantly-1-ylmethyl)carbamoyl]pyrazolo[1,5-*a*]pyridine-2-ylmethyl ester



Methanesulfonyl chloride (140 μL, 1.2 mmol) is added to a slurry of 2-hydroxymethyl-pyrazolo[1,5-*a*]pyridine-4-carboxylic acid (adamantan-1-ylmethyl)amide (510 mg, 1.5 mmol) in THF (15 mL) and triethylamine (310 μL, 2.3 mmol) under N_2. After 1 h, the mixture is filtered (THF rinse). The volatiles are

removed under reduced pressure to afford the title compound as a pale yellow solid. LC-MS *m/z* ($M + Na^+$): 440.04.

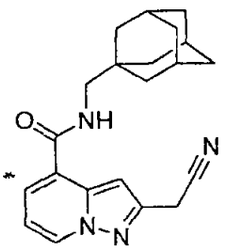
Step 2. N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-{[(3R)-3-aminopyrrolidin-1-yl]methyl}pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide



Compound 4

tert-Butyl (*R*)-pyrrolidin-3-ylcarbamate (420 mg, 2.3 mmol) is added to a mixture of methanesulfonic acid 4-[(adamantly-1-ylmethyl)carbamoyl]pyrazolo[1,5-*a*]pyridine-2-ylmethyl ester (630 mg, 1.5 mmol), K_2CO_3 (530 mg, 3.8 mmol) and DMF (15 mL) under N_2. After 3 h, H_2O (50 mL) is added. The solution is extracted with EtOAc (50 mL). The organics are washed with H_2O (50 mL) and brine (50 mL) and then dried over Na_2SO_4, filtered and concentrated. Purification by flash column chromatography (1% NH_4OH in 95:5 CH_2Cl_2:MeOH) affords (*R*)-(1-{4-[(adamantan-1-ylmethyl)carbamoyl]pyrazolo[1,5-*a*]pyridin-2-ylmethyl}pyrrolidin-3-yl)carbamic acid *tert*-butyl ester as a tan foam. The foam is dissolved in MeOH (12 mL) and 4 M HCl in dioxane (3.0 mL). After 6 h, the volatiles are removed under reduced pressure to afford a tan foam. 15% Sat. aq. K_2CO_3 (50 mL) is added and the mixture is extracted with EtOAc (5 × 25 mL). The combined organics are dried over Na_2SO_4, filtered and concentrated. Purification by flash column chromatography (1% NH_4OH in 9:1 CH_2Cl_2:MeOH to 2% NH_4OH in 4:1 CH_2Cl_2:MeOH) affords the title compound as a tan foam. ^1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ: 8.49 (d, 1H), 7.54 (dd, 1H), 6.77 (s, 1H), 6.75 (t, 1H), 6.30 (bt, 1H), 4.85 (dd, 2H), 3.48 – 3.58 (m, 1H), 3.20 (d, 2H), 2.77 – 2.88 (m, 2H), 2.52 (m, 1H), 2.43 (dd, 1H), 2.14 – 2.28 (m, 1H), 1.45 – 2.05 (m, 18H). LC-MS *m/z* ($M + H^+$): 408.3; R_T = 1.15 min.

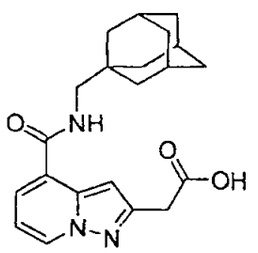
E. N-(ADAMANTAN-1-YLMETHYL)-2-(CYANOMETHYL)PYRAZOLO[1,5-A]PYRIDINE-4-CARBOXAMIDE (COMPOUND 5)



Compound 5

Sodium cyanide (520 mg, 11 mmol) is added to a solution of methanesulfonic acid 4-[(adamantly-1-ylmethyl)carbamoyl]pyrazolo[1,5-*a*]pyridine-2-ylmethyl ester (720 mg, 2.1 mmol) and DMF (20 mL) under N_2. The mixture is warmed to 60 °C for 1 h. After cooling to rt, the mixture is diluted with EtOAc (50 mL) and then washed with 50% sat. aq. $NaHCO_3$ (2 × 50 mL) and brine (50 mL). The organics are dried over Na_2SO_4, filtered and concentrated. Purification by flash column chromatography (2:1 EtOAc:hexanes) affords the title compound as a tan foam. ^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ: 8.48 (d, 1H), 7.54 (dd, 1H), 6.91 (s, 1H), 6.83 (t, 1H), 6.26 (bs, 1H), 3.97 (s, 2H), 3.20 (d, 2H), 1.97 – 2.05 (m, 3H), 1.55 – 1.79 (m, 12H). LC-MS *m/z* (M + H^+): 349.3; R_T = 1.28 min.

F. {4-[(ADAMANTAN-1-YLMETHYL)CARBAMOYL]PYRAZOLO[1,5-*A*]PYRIDIN-2-YL}ACETIC ACID (COMPOUND 6)

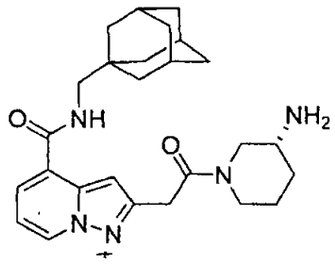


Compound 6

A solution of conc. HCl (2.3 mL) and AcOH (4.6 mL) is added to 2-cyanomethylpyrazolo[1,5-*a*]pyridine-4-carboxylic acid (adamantan-1-ylmethyl)amide. The solution is warmed to 60 °C for 20 h. The volatiles are removed under reduced pressure, and the residue is dissolved in 1 M aq. NaOH (10 mL). The solution is washed with Et_2O (20 mL). The aqueous layer is acidified to ~pH 3 with 1 M aq. HCl. The mixture is filtered and the filtrate dried to afford the title compound as a light tan solid. ^{1}H NMR (400 MHz, ($(CD_3)_2SO$) δ: 8.71 (d, 1H),

8.40 (bt, 1H), 7.60 (d, 1H), 6.90 (t, 1H), 6.79 (s, 1H), 3.75 (s, 2H), 2.99 (d, 2H), 1.88 – 1.96 (m, 3H), 1.46 – 1.70 (m, 12H). LC-MS *m/z* ($M + H^+$): 368.3; R_T = 1.27 min.

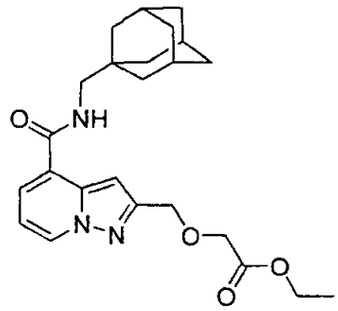
G. N-(ADAMANTAN-1-YLMETHYL)-2-{2-[(3R)-3-AMINOPIPERIDIN-1-YL]-2-OXOETHYL}PYRAZOLO[1,5-A]PYRIDINE-4-CARBOXAMIDE (COMPOUND 7)



Compound 7

BOP (250 mg, 570 mmol) is added to a mixture of {4-[(adamantan-1-ylmethyl)carbamoyl]-pyrazolo[1,5-*a*]pyridin-2-yl}acetic acid (160 mg, 435 μmol), *tert*-butyl (*R*)-piperidin-3-ylcarbamate (96 mg, 480 μmol), iPr_2NEt (230 μL, 1.3 mmol), and DMF (2.2 mL) under N_2. The reaction vessel is sealed and the solution is left to stir for 15 h. EtOAc (25 mL) is added. The solution is washed with H_2O (2 × 25 mL) and brine (25 mL). The organics are dried over Na_2SO_4, filtered and concentrated. Purification by flash column chromatography (95:5 CH_2Cl_2:MeOH) affords (*R*)-(1-{4-[(adamantan-1-ylmethyl)carbamoyl]pyrazolo[1,5-*a*]pyridin-2-yl}acetyl)piperidin-3-yl]carbamic acid *tert*-butyl ester as an orange foam. MeOH (4.2 mL) and 4 M HCl in dioxane (1.1 mL) are added. After 16 h, the volatiles are removed under reduced pressure to afford a light tan solid. 15% Aqueous K_2CO_3 (30 mL) is added. The solution is extracted with EtOAc (3 × 30 mL). The combined organics are dried over Na_2SO_4, filtered and concentrated. Purification by flash column chromatography (1% NH_4OH in 9:1 CH_2Cl_2:MeOH) affords the title compound as a tan foam. ^1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 8.46 – 8.64 (m, 1H), 7.44 (bs, 1H), 6.68 – 6.80 (m, 2H), 3.86 – 4.17 (m, 3H), 3.38 – 3.61 (m, 3H), 3.12 – 3.25 (m, 3H), 1.40 – 2.04 (m, 19H). LC-MS *m/z* ($M + H^+$): 450.3; R_T = 1.17.

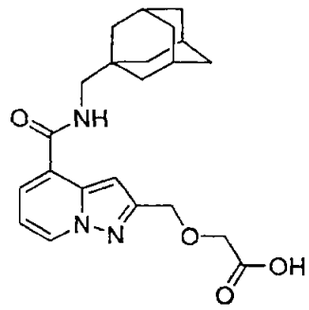
H. {4-[(ADAMANTAN-1-YLMETHYL)CARBAMOYL]PYRAZOLO[1,5-*A*]PYRIDIN-2-YLMETHOXY}ACETIC ACID ETHYL ESTER (COMPOUND 8)



Compound 8

A 1.0 M solution of tBuOK in THF (0.3 mL) is added to a mixture of 2-hydroxymethyl-pyrazolo[1,5-*a*]pyridine-4-carboxylic acid (adamantan-1-ylmethyl)amide (73 mg, 210 μmol) and DMF (1 mL) at 0 °C under N_2. After 5 min, ethyl bromoacetate (30 μL, 280 μmol) is added. The cold bath is removed and the mixture is left to stir for 23 h. 50% Sat. aq. $NaHCO_3$ is added and the solution is extracted with EtOAc (20 mL). The organics are dried over Na_2SO_4, filtered and concentrated. Purification by PTLC (2:1 EtOAc:hexanes) affords the title compound as a pale yellow film. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 8.50 (dd, 1H), 7.57 (d, 1H), 6.88 (s, 1H), 6.81 (dt, 1H), 6.27 (bs, 1H), 4.88 (s, 2H), 4.22 (q, 2H), 4.19 (s, 2H), 3.21 (d, 2H), 1.94 – 2.04 (m, 3H), 1.56 – 1.78 (m, 12H), 1.28 (t, 3H). LC-MS *m/z* (M + H^+): 426.3; R_T = 1.31.

I. {4-[(ADAMANTAN-1-YLMETHYL)CARBAMOYL]PYRAZOLO[1,5-*A*]PYRIDIN-2-YLMETHOXY}ACETIC ACID (COMPOUND 9)



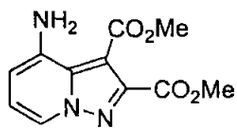
Compound 9

3 M Aq. KOH (50 μL) is added to a solution of {4-[(adamantan-1-ylmethyl)carbamoyl]-pyrazolo[1,5-*a*]pyridin-2-ylmethoxy}acetic acid ethyl ester (11 mg, 25 μmol) and EtOH (250 μL). After 18 h, the volatiles are removed under reduced pressure. The residue is diluted with H_2O (0.3 mL) and then acidified with 1 M aq. HCl. The title compound is collected by filtration. ^{1}H NMR (400 MHz,

($(CD_3)_2SO$) δ: 8.74 (d, 1H), 8.42 (bs, 1H), 7.62 (d, 1H), 6.93 (t, 1H), 6.84 (s, 1H), 4.70 (s, 2H), 4.08 (s, 2H), 2.99 (d, 2H), 1.86 – 2.00 (m, 3H), 1.48 – 1.73 (m, 12H). LC-MS *m/z* ($M + H^+$): 398.3; $R_T = 1.26$.

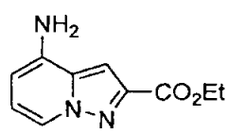
J. 4-(2-ADAMANTAN-1-YLACETYLAMINO)PYRAZOLO[1,5-*A*]PYRIDINE-2-CARBOXYLIC ACID ETHYL ESTER (COMPOUND 10)

Step 1. 4-Aminopyrazolo[1,5-*a*]pyridine-2,3-dicarboxylic acid dimethyl ester



A solution of *O*-mesitylenesulfonylhydroxylamine, ~30-35% water, (14.5 g, 52 mmol) and CH_2Cl_2 (100 mL) is added to a solution of 3-aminopyridine (4.9 g, 52 mmol) and CH_2Cl_2 (100 mL) at 0 °C dropwise over 30 min. After 30 min at 0 °C, the ice bath is removed and the solution is stirred at rt for 30 min. The volatiles are removed under reduced pressure to afford a yellow oil, *N*-amino-3-aminopyridinium mesityl sulfonate. DMF (100 mL) and K_2CO_3 (15 g, 110 mmol) are added. The dark brown mixture is cooled in a water bath. Dimethyl acetylenedicarboxylate (6.9 mL, 56 mmol) are added dropwise over 10 min. After 15 min, the water bath is removed and the mixture is left to vigorously stir under air for 66 h. The volatiles are removed under reduced pressure. The residue is slurried in MeOH and the mixture is filtered through Celite (MeOH rinse). The volatiles are removed under reduced pressure to afford a dark brown oil. 33% Sat. aq. $NaHCO_3$ (150 mL) is added and the solution is extracted with EtOAc (6 × 200 mL). The combined organics are dried over Na_2SO_4, filtered, and concentrated. Purification by flash column chromatography (CH_2Cl_2) affords the title compound as an orange-red oil. LC-MS *m/z* ($M + Na^+$): 272.01.

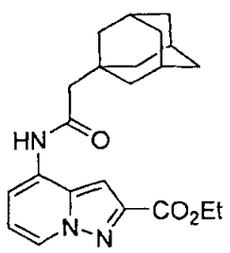
Step 2. 4-Aminopyrazolo[1,5-*a*]pyridine-2-carboxylic acid ethyl ester



50% Aqueous H_2SO_4 (60 mL) is added to 4-Aminopyrazolo[1,5-*a*]pyridine-2,3-dicarboxylic acid dimethyl ester (1.47 g, 5.90 mmol) under air. The mixture is warmed to 80 °C. After 6.5 h, the solution is cooled to 0 °C and then neutralized with 10 N aq. NaOH. The resulting slurry is acidified to pH 3 with 1 M aq. HCl. The

volatiles are removed under reduced pressure. The residue is washed with 30% EtOH in CH_2Cl_2. The volatiles are removed under reduced pressure to afford 4-aminopyrazolo[1,5-*a*]pyridine-2-carboxylic acid in Na_2SO_4. LC-MS *m/z* (M + H^+): 178.01. A solution of conc. H_2SO_4 (6.0 mL) and ethanol (120 mL) is added to the crude 4-aminopyrazolo[1,5-*a*]pyridine-2-carboxylic acid. The mixture is warmed to 75 °C for 3.5 h. After cooling to rt, the mixture is made basic with dropwise addition of sat. aq. $NaHCO_3$. The volatiles are removed under reduced pressure. The aqueous mixture is filtered (EtOAc rinse). The aqueous solution is extracted with EtOAc (3 × 250 mL). The combined organics are dried over Na_2SO_4, filtered, and concentrated to afford the title compound as dark brown solid. LC-MS *m/z* (M + Na^+): 228.03.

Step 3. 4-(2-Adamantan-1-ylacetylamino)pyrazolo[1,5-*a*]pyridine-2-carboxylic acid ethyl ester



Compound 10

A 1.0 M solution of triethylamine in toluene (0.3 mL) is added to a solution of 1-adamantaneacetic acid (14 mg, 80 μmol) and 4-aminopyrazolo[1,5-*a*]pyridine-2-carboxylic acid ethyl ester (12 mg, 60 μmol) in DMF (0.3 mL) under N_2. A solution of 2-chloro-1,3-dimethylimidazolinium chloride (20 mg, 120 μmol) in ACN (0.3 mL) is added. The reaction vessel is sealed and the mixture is warmed to 50 °C for 2 h. The mixture is cooled to rt. 50% Sat. aq. $NaHCO_3$ (2 mL) is added. The solution is extracted with Et OAc (2 × 1 mL). The combined organics are concentrated. Purification by preparative thin layer chromatography (2:1 hexanes:EtOAc) affords the title compound as a light tan solid. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 8.32 (d, 1H), 8.05 (d, 1H), 7.15 (s, 1H), 7.05 (s, 1H), 6.91 (t, 1H), 4.59 (q, 2H), 2.21 (s, 2H), 1.98 – 2.06 (m, 3H), 1.56 – 1.78 (m, 12H), 1.46 (t, 3H). LC-MS *m/z* (M + H^+): 382.10.

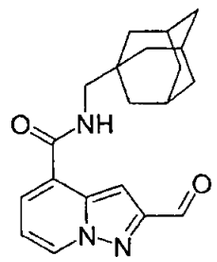
EXAMPLE 2

Synthesis of Additional Representative Heteroaryl Amide Analogues

This Example illustrates the synthesis of additional representative heteroaryl amide analogues of Formula I, as well as certain intermediates useful in the preparation of such compounds.

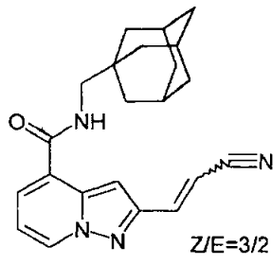
A. 2-(2-CYANO-VINYL)-PYRAZOLO[1,5-A]PYRIDINE-4-CARBOXYLIC ACID (ADAMANTAN-1-YLMETHYL)-AMIDE (COMPOUND 11)

Step 1. 2-Formyl-pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxylic acid (adaman-1-ylmethy)-amide



A solution of 4-[(adaman-1-ylmethyl)-carbomoy]-pyrazolo[1,5-a]pyridine-2-carboxylic acid ethyl ester (1.2 g, 3.1 mmol) in THF (25 mL) is cooled to -78 °C. A solution of DIBAL-H (25 mL, 1M in hexane) is added dropwise. The mixture is stirred for 2 h at -78 °C. A saturated Rochelle salt solution is added, and the mixture is stirred for 4 h at rt. The mixture is extracted with DCM (4 × 70 mL), and the organic layer is dried over Na_2SO_4. Purification by a flash column (eluted with 2-3%MeOH in DCM) gives the title compound.

Step 2. 2-(2-Cyano-vinyl)-pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxylic acid (adamantan-1-ylmethyl)-amide

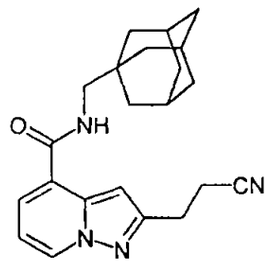


Compound 11

Ph_3P=CHCN (735 mg, 2.5 mmol) is added to a solution of 2-formyl-pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxylic acid (adaman-1-ylmethy)-amide (700 mg, 2.1 mmol) in THF at rt. The mixture is stirred for 2 h. The solvent is removed, and the

resulting mixture of Z and E isomers is separated by a flash column (eluted with 20 to 30% EtOAc in hexane) into pure Z isomer, pure E isomer and a mixture (Z/E).

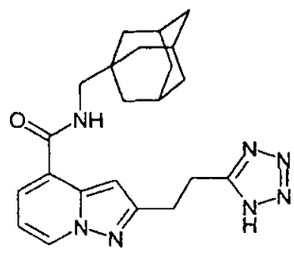
B. N-(ADAMANTAN-1-YLMETHYL)-2-(2-CYANOETHYL)PYRAZOLO[1,5-A]PYRIDINE-4-CARBOXAMIDE (COMPOUND 12)



Compound 12

Pd/C (50 mg) is added to a solution of 2-(2-cyano-vinyl)-pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxylic acid (adamantan-1-ylmethyl)-amide in MeOH. The mixture is stirred under hydrogen balloon for 6 h. The mixture is filtered through celite and the celite and solvent are removed to give the title compound. LC-MS *m/z* ($M + H^+$): 363.

C. 2-[2-(1H-TETRAZOL-5YL)-ETHYL]-PYRAZOLO[1,5-A]PYRIDINE-4-CARBOXYLIC ACID (ADAMANTAN-1-YLMETHYL)-AMIDE (COMPOUND 13)



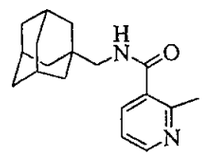
Compound 13

NaN_3 (65 mg, 0.48 mmol) and NH_4Cl (26 mg, 0.48 mmol) are added to a solution of 2-(2-cyano-ethyl)-pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxylic acid (adamantan-1-ylmethyl)-amide (58 mg, 0.16 mmol) in DMSO at rt. The mixture is heated to 130 °C for 6 h. Additional NaN_3 (65 mg, 0.48 mmol) is added, and the mixture is heated for 14 h. The mixture is cooled to rt. H_2O is added and pH is adjusted to about 7. The aqueous layer is extracted with EtOAc (3 × 15 mL), dried over Na_2SO_4 and the solvent is removed to dryness. The crude product is purified by PTLC (eluted with 2% MeOH in DCM) to give the title compound. ^1H NMR ($CDCl_3$): 8.49-8.47 (d, 1H), 7.52-7.50 (d, 1H), 6.79-6.69 (t, 1H), 6.69 (s, 1H), 6.40 (b, 1H), 3.44-3.41 (m,

2H), 3.31-3.29 (m, 2H), 3.20-3.19 (m, 2H), 2.00 (b, 3H), 1.74-1.60 (m, 12H). LC-MS *m/z* (M + H^+): 406.07.

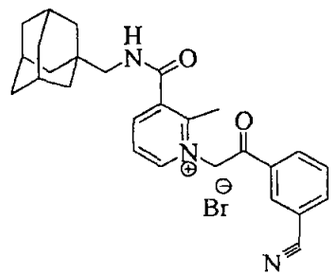
D. N-(ADAMANTAN-1-YLMETHYL)-3-(3-CYANOBENZOYL)INDOLIZINE-8-CARBOXAMIDE (COMPOUND 14)

Step 1. N-(Adamantan-1-ylmethyl)-2-methylnicotinamide



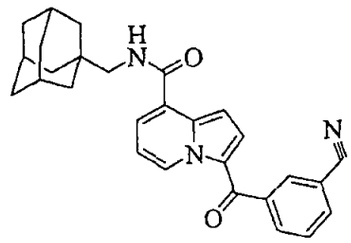
To a mixture of 2-methylnicotinic acid (2.06 g, 15 mmol) in 40 mL of DMF is added sequentially diisopropylethylamine (5.2 mL, 30 mmol), 1-adamantan-1-ylmethanamine (2.5 g, 15 mmol), and benzotriazol-1-yloxytris-(dimethylamino)-phosphonium hexafluorophosphate (BOP reagent, 8 g, 18 mmol). The resulting mixture is stirred at rt for 17 h. The mixture is then poured into ice water (150 mL), and the precipitated solid is collected by vacuum filtration and dried *in vacuo* to afford the title compound as an off-white solid. Mass spec. (285.19, M+H).

Step 2. 3-[(Adamantan-1-ylmethyl)carbamoyl]-1-[2-(3-cyanophenyl)-2-oxoethyl]-2-methylpyridinium bromide



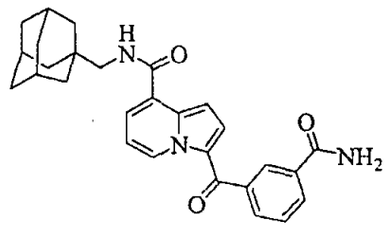
A mixture of N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-methylnicotinamide (300 mg, 1.05 mmol) and 3-(bromoacetyl)benzonitrile (235 mg, 1.05 mmol) in 10 mL of acetone is stirred at reflux for 2.5 days. After cooling to rt, most of the acetone is evaporated, and the remaining mixture is filtered. The collected solid is dried *in vacuo* to give the title compound as a white solid. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 8.93 (1H, m), 8.86 (1H, bs), 8.62 (1H, d), 8.58 (1H, s), 8.33 (1H, d), 8.26 (1H, d), 8.14 (1H, t), 7.87 (1H, t), 6.60 (2H, s), 3.01 (2H, d), 2.67 (3H, s), 1.94 (3H, s), 1.63 (6H, m), 1.51 (6H, s).

Step 3. N-(Adamantan-1-ylmethyl)-3-(3-cyanobenzoyl)indolizine-8-carboxamide



A mixture of 3-[(adamantan-1-ylmethyl)carbamoyl]-1-[2-(3-cyanophenyl)-2-oxoethyl]-2-methylpyridinium bromide (400 mg, 0.81 mmol) and N,N-dimethylformamide dimethyl acetal (0.22 mL, 1.62 mmol) in DMF (2.0 mL) is stirred at 110°C for 3 h. The mixture is concentrated *in vacuo* and purified by column chromatography (gradient from CH_2Cl_2 to 10% EtOAc/CH_2Cl_2) to give the title compound as a yellow solid. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 9.91 (1H, d), 8.53 (1H, t), 8.15 (1H, m), 8.05 (2H, m), 7.74 (1H, t), 7.66 (1H, dd), 7.44 (1H, d), 7.22 (1H, t), 6.95 (1H, d), 3.01 (2H, d), 1.93 (3H, s), 1.63 (6H, m), 1.52 (6H, s). Mass spec. (438.19, M+H).

E. N-(ADAMANTAN-1-YLMETHYL)-3-(3-CARBAMOYLBENZOYL)INDOLIZINE-8-CARBOXAMIDE (COMPOUND 15)



To ice cold H_2SO_4 (0.5 mL) is added in one portion N-(adamantan-1-ylmethyl)-3-(3-cyano-benzoyl)indolizine-8-carboxamide (50 mg, 0.11 mmol). The mixture is stirred at 0°C until it becomes homogeneous, at which time the ice bath is removed and the reaction is warmed to rt. After stirring for 12 h, the mixture is cooled back to 0°C and quenched with ice. The resulting solution is neutralized to pH=7-8 with 5N NaOH and extracted with EtOAc (20 mL). The EtOAc extract is dried (Na_2SO_4), filtered, and evaporated to give the title compound as a yellow solid. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 9.92 (1H, d), 8.50 (1H, t), 8.22 (1H, s), 8.09 (2H, m), 7.88 (1H, d), 7.62 (2H, m), 7.48 (1H, s), 7.40 (1H, d), 7.19 (1H, t), 6.94 (1H, d), 3.00 (2H, s), 1.93 (3H, s), 1.62 (6H, m), 1.52 (6H, s). Mass spec. (456.21, M+H).

EXAMPLE 3

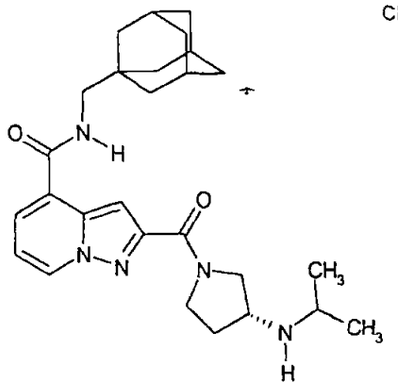
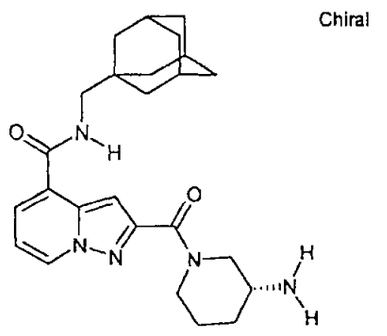
Synthesis of Additional Representative Heteroaryl Amide Analogues

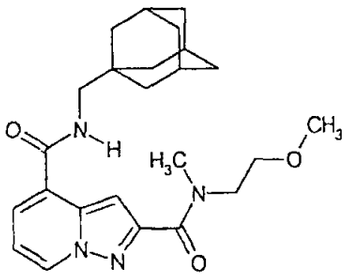
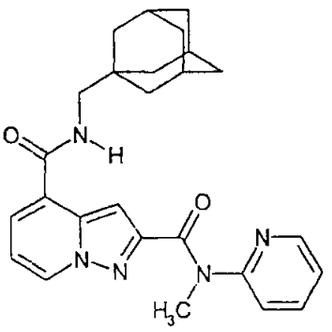
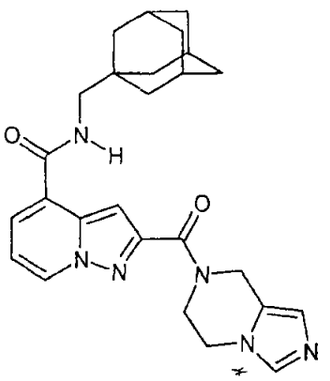
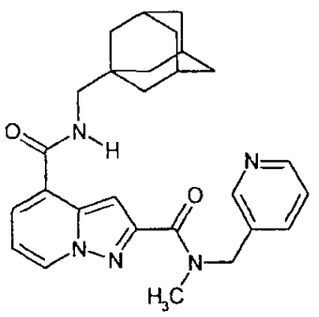
Using routine modifications, the starting materials may be varied and additional steps employed to produce other compounds provided herein. Compounds listed in Tables I and II are prepared using such methods. In the column of Table I labeled "IC_{50}," a "*" indicates that the IC_{50} determined as described in Example 4A is 2 micromolar or less (*i.e.*, the concentration of such compounds that is required to provide a 50% decrease in the fluorescence response of cells exposed to 80 μM of *(2'(3')-O-(4-benzoyl-benzoyl)adenosine 5'-triphosephate is 2 micromolar or less).*

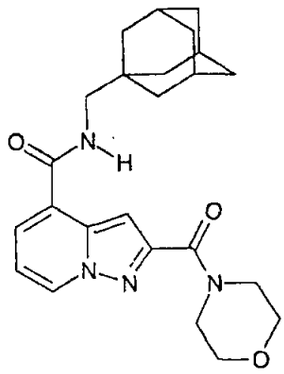
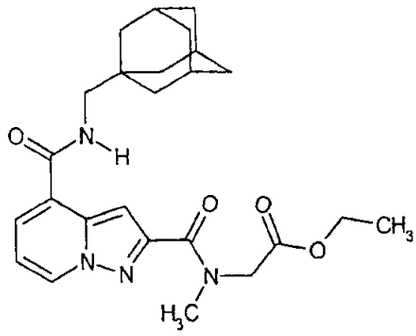
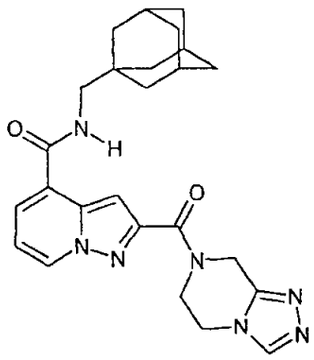
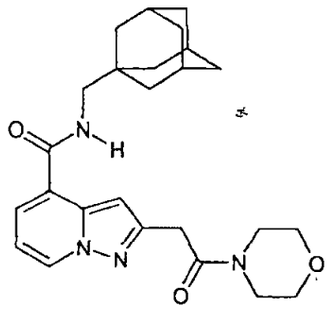
Mass spectroscopy data is provided in Table I as (M+1) in the column headed "MS." The retention time, in minutes, is provided in the column headed R_T.

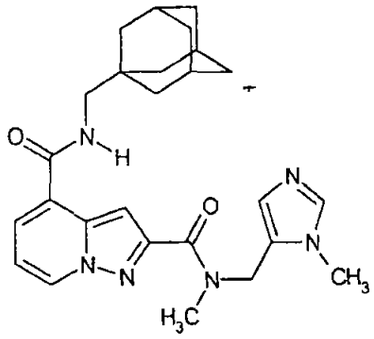
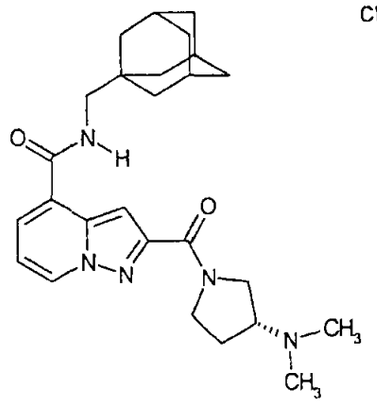
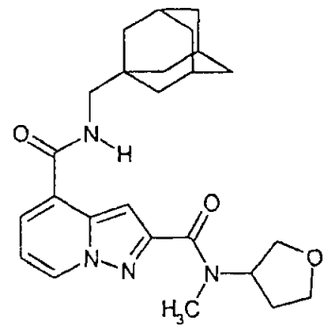
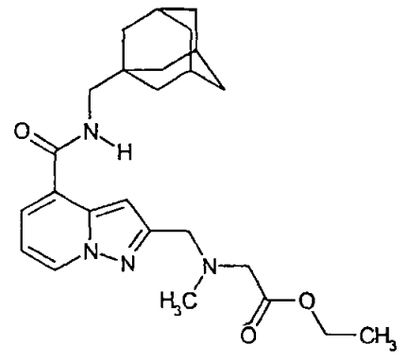
Table I

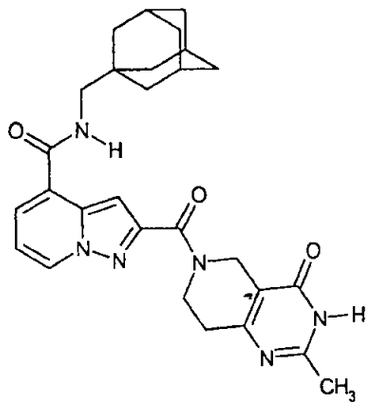
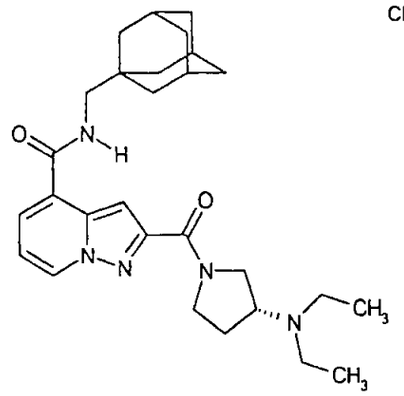
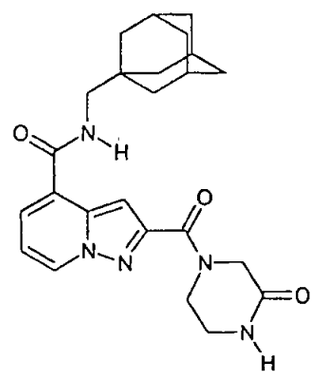
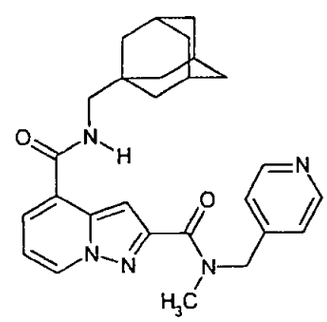
Representative Heteroaryl Amide Analogues

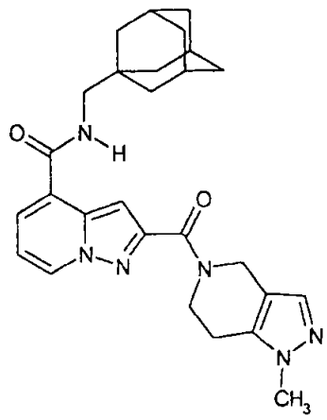
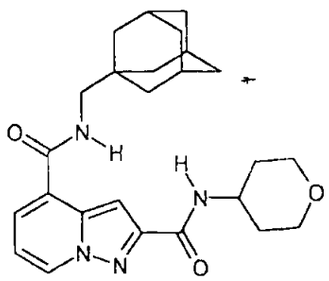
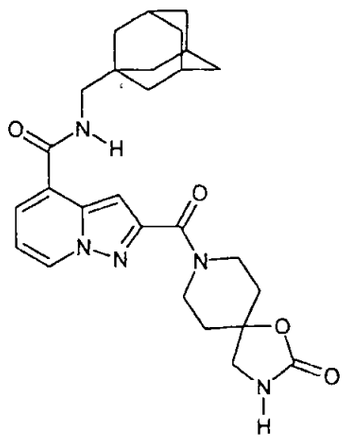
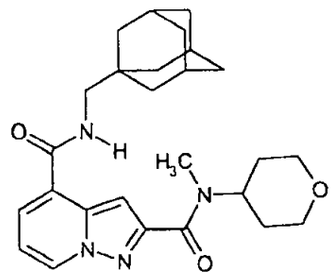
Compound		Name	MS	R_T	IC_{50}
16	 Chiral	N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-{[(3R)-3-(isopropylamino)pyrrolidin-1-yl]carbonyl}pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide	464.3	1.21	*
17	 Chiral	N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-{[(3R)-3-aminopiperidin-1-yl]carbonyl}pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide	436.3	1.18	*

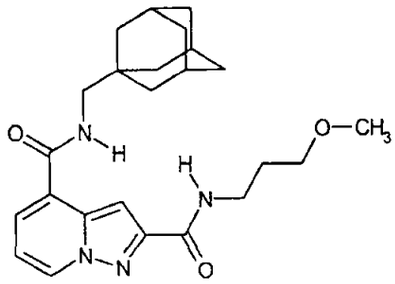
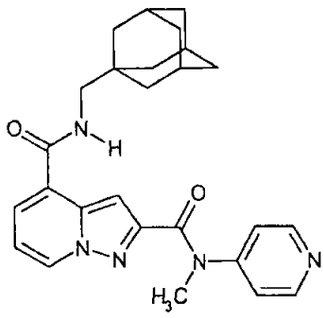
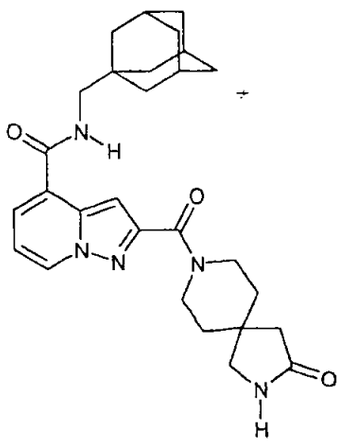
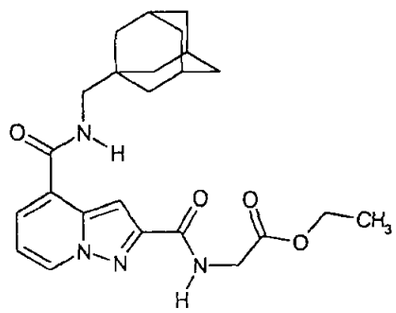
Compound	Name	MS	R_T	IC_{50}
18 	4-N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-N-(2-methoxyethyl)-2-N-methylpyrazolo[1,5-a]pyridine-2,4-dicarboxamide	425.3	1.3	*
19 	4-N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-N-methyl-2-N-pyridin-2-ylpyrazolo[1,5-a]pyridine-2,4-dicarboxamide	444.3	1.28	*
20 	N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-(5,6-dihydroimidazo[1,5-a]pyrazin-7(8H)-ylcarbonyl)pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide	459.3	1.2	*
21 	4-N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-N-methyl-2-N-(pyridin-3-ylmethyl)pyrazolo[1,5-a]pyridine-2,4-dicarboxamide	458.2	1.37	*

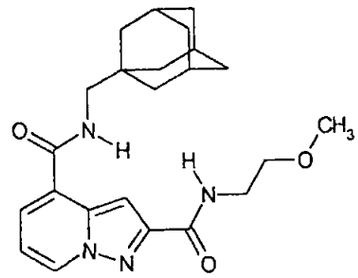
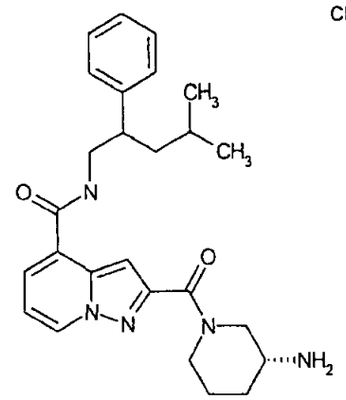
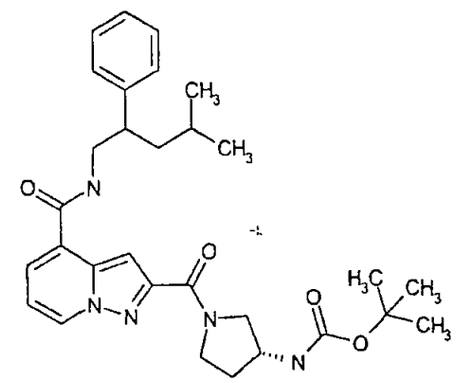
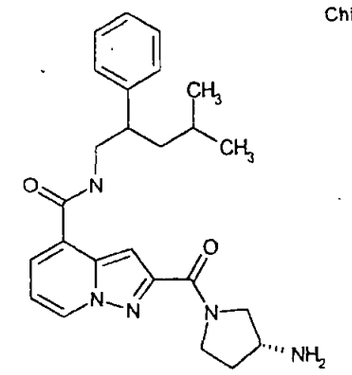
Compound		Name	MS	R_T	IC_{50}
22		N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-(morpholin-4-ylcarbonyl)pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide	423.2	1.44	*
23		ethyl N-({4-[(adamantan-1-ylmethyl)carbamoyl]pyrazolo[1,5-a]pyridin-2-yl}carbonyl)-N-methylglycinate	453.3	1.3	*
24		N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-(5,6-dihydro[1,2,4]triazolo[4,3-a]pyrazin-7(8H)-ylcarbonyl)pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide	460.3	1.24	*
25		N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-(2-morpholin-4-yl-2-oxoethyl)pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide	437.2	1.39	*

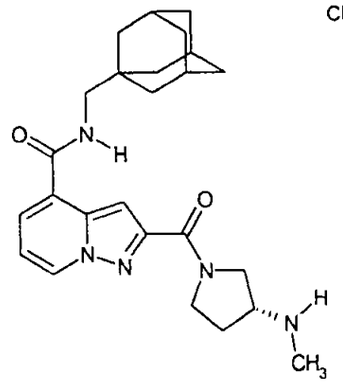
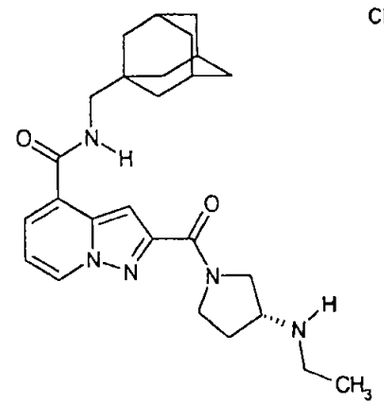
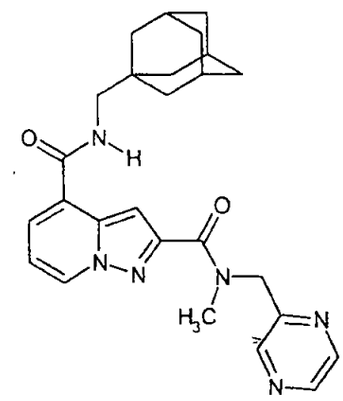
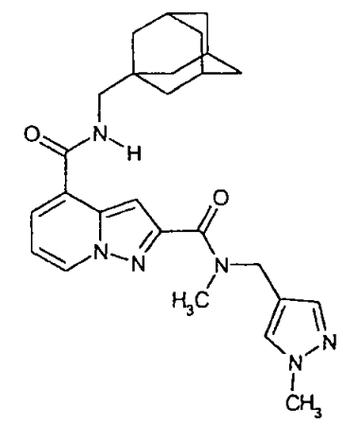
Compound	Name	MS	R_T	IC_{50}
26 	4-N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-N-methyl-2-N-[(1-methyl-1H-imidazol-5-yl)methyl]pyrazolo[1,5-a]pyridine-2,4-dicarboxamide	461.3	1.2	*
27 Chiral 	N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-{[(3R)-3-(dimethylamino)pyrrolidin-1-yl]carbonyl}pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide	450.3	1.17	*
28 	4-N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-N-methyl-2-N-(tetrahydrofuran-3-yl)pyrazolo[1,5-a]pyridine-2,4-dicarboxamide	437.3	1.28	*
29 	ethyl N-({4-[(adamantan-1-ylmethyl)carbamoyl]pyrazolo[1,5-a]pyridin-2-yl}methyl)-N-methylglycinate	439.3	1.22	*

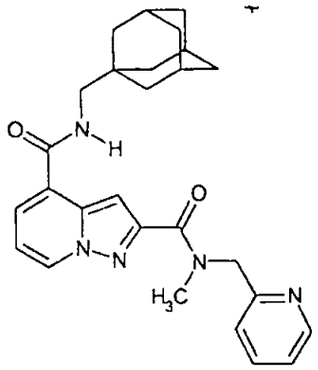
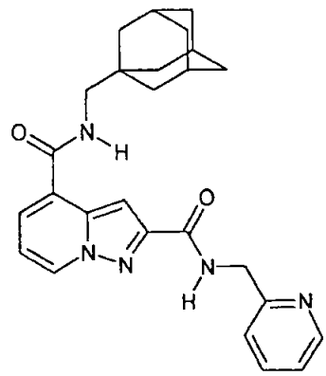
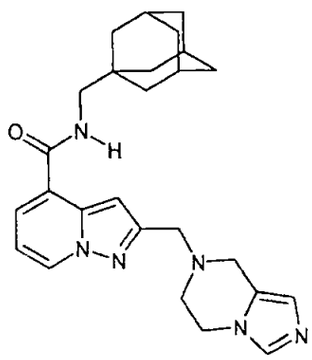
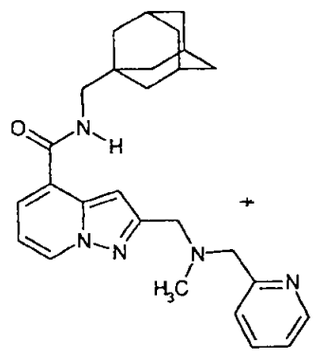
Compound		Name	MS	R_T	IC_{50}
30		N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-[(2-methyl-4-oxo-3,5,7,8-tetrahydropyrido[4,3-d]pyrimidin-6(4H)-yl)carbonyl]pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide	501.3	1.26	*
31	 Chiral	N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-{[(3R)-3-(diethylamino)pyrrolidin-1-yl]carbonyl}pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide			*
32		N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-[(3-oxopiperazin-1-yl)carbonyl]pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide	436.2	1.26	*
33		4-N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-N-methyl-2-N-(pyridin-4-ylmethyl)pyrazolo[1,5-a]pyridine-2,4-dicarboxamide	458.2	1.31	*

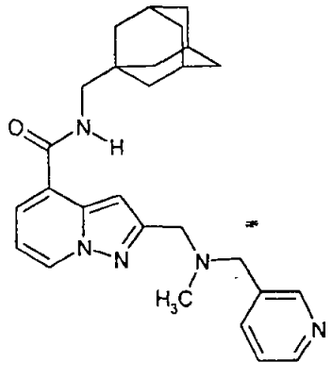
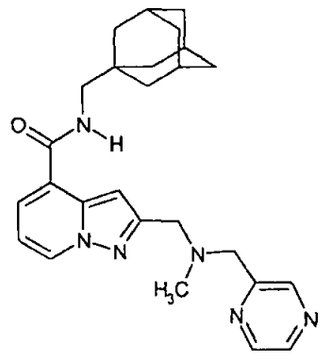
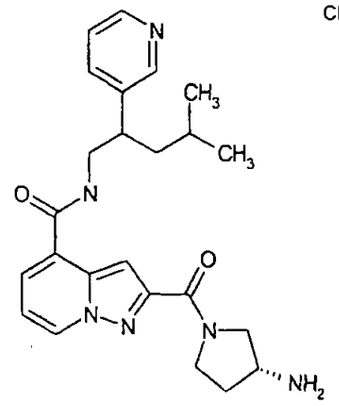
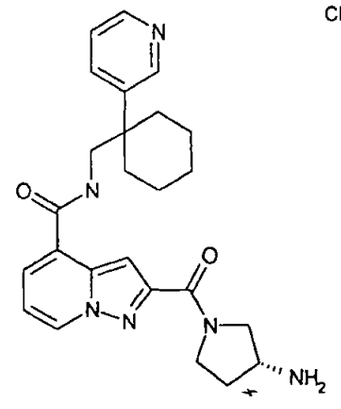
Compound	Name	MS	R_T	IC_{50}
34 	N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-[(1-methyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-pyrazolo[4,3-c]pyridin-5-yl)carbonyl]pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide	473.3	1.29	*
35 	4-N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-N-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)pyrazolo[1,5-a]pyridine-2,4-dicarboxamide	437.3	1.29	*
36 	N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-[(2-oxo-1-oxa-3,8-diazaspiro[4.5]dec-8-yl)carbonyl]pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide	492.3	1.26	*
37 	4-N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-N-methyl-2-N-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)pyrazolo[1,5-a]pyridine-2,4-dicarboxamide	451.3	1.3	*

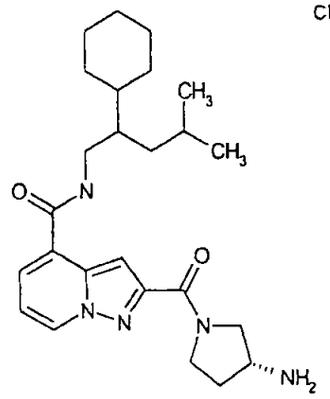
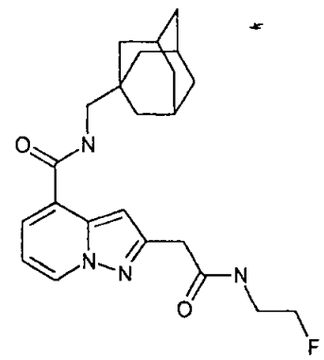
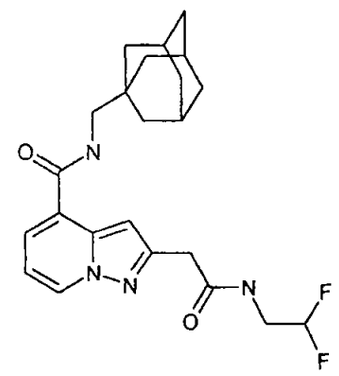
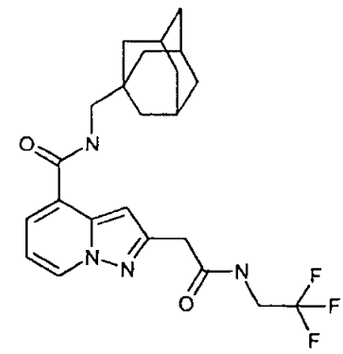
Compound	Name	MS	R_T	IC_{50}
38 	4-N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-N-(3-methoxypropyl)pyrazolo[1,5-a]pyridine-2,4-dicarboxamide	425.3	1.3	*
39 	4-N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-N-methyl-2-N-pyridin-4-ylpyrazolo[1,5-a]pyridine-2,4-dicarboxamide	444.3	1.21	*
40 	N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-[(3-oxo-2,8-diazaspiro[4.5]dec-8-yl)carbonyl]pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide	490.4	1.25	*
41 	ethyl N-({4-[(adamantan-1-ylmethyl)carbamoyl]pyrazolo[1,5-a]pyridin-2-yl}carbonyl)glycinate	439.3	1.3	*

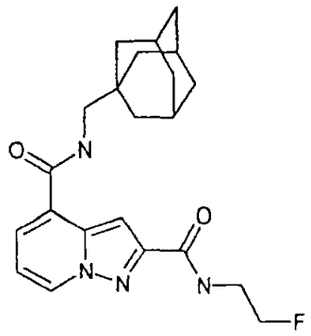
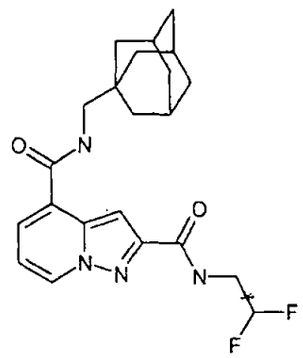
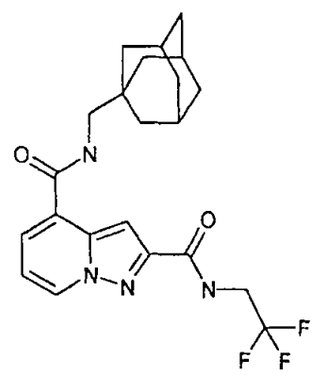
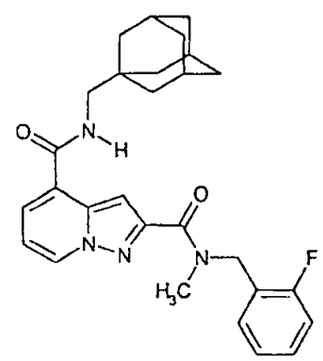
Compound		Name	MS	R_T	IC_{50}
42		4-N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-N-(2-methoxyethyl)pyrazolo[1,5-a]pyridine-2,4-dicarboxamide	411.3	1.28	*
43	 Chiral	2-{[(3R)-3-aminopiperidin-1-yl]carbonyl}-N-(4-methyl-2-phenylpentyl)pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide	448.4	1.2	*
44		tert-butyl [1-({4-[(4-methyl-2-phenylpentyl)carbamoyl]pyrazolo[1,5-a]pyridin-2-yl}carbonyl)pyrrolidin-3-yl]carbamate	478.3	1.33	
45	 Chiral	2-{[(3R)-3-aminopyrrolidin-1-yl]carbonyl}-N-(4-methyl-2-phenylpentyl)pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide	434.4	1.21	*

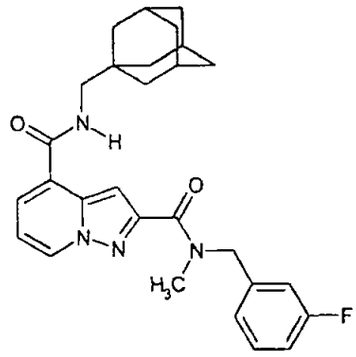
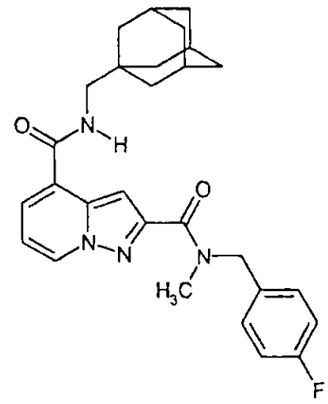
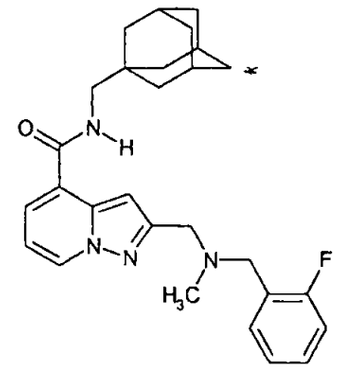
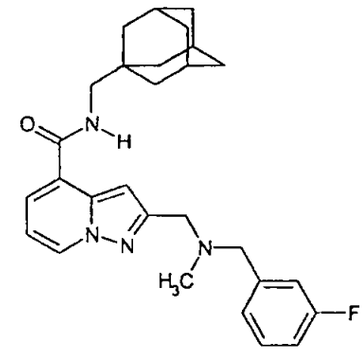
Compound		Name	MS	R_T	IC_{50}
46	 Chiral	N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-{[(3R)-3-(methylamino)pyrrolidin-1-yl]carbonyl}pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide	436.4	1.2	*
47	 Chiral	N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-{[(3R)-3-(ethylamino)pyrrolidin-1-yl]carbonyl}pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide	450.4	1.22	*
48		4-N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-N-methyl-2-N-(pyrazin-2-ylmethyl)pyrazolo[1,5-a]pyridine-2,4-dicarboxamide	459.3	1.28	*
49		4-N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-N-methyl-2-N-[(1-methyl-1H-pyrazol-4-yl)methyl]pyrazolo[1,5-a]pyridine-2,4-dicarboxamide	461.3	1.28	*

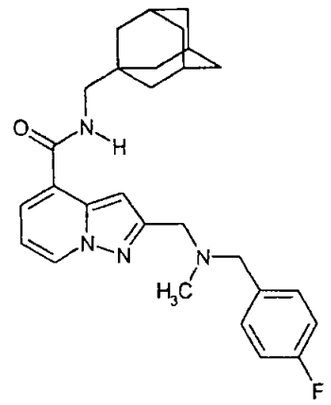
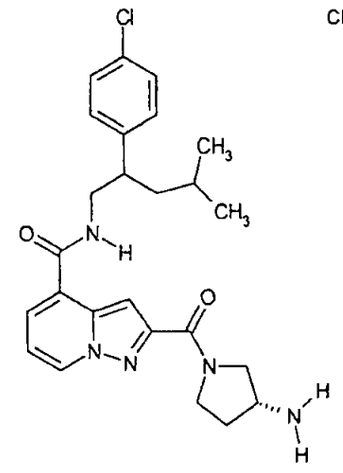
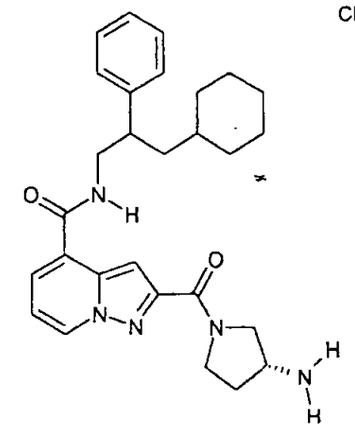
Compound	Name	MS	R_T	IC_{50}
50 	4-N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-N-methyl-2-N-(pyridin-2-ylmethyl)pyrazolo[1,5-a]pyridine-2,4-dicarboxamide	458.3	1.26	*
51 	4-N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-N-(pyridin-2-ylmethyl)pyrazolo[1,5-a]pyridine-2,4-dicarboxamide	444.3	1.24	*
52 	N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-(5,6-dihydroimidazo[1,5-a]pyrazin-7(8H)-ylmethyl)pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide	445.4	1.21	*
53 	N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-{[methyl(pyridin-2-ylmethyl)amino]methyl}pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide	444.4	1.23	*

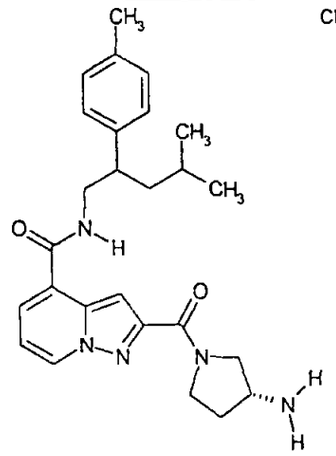
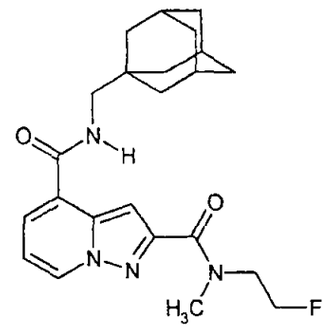
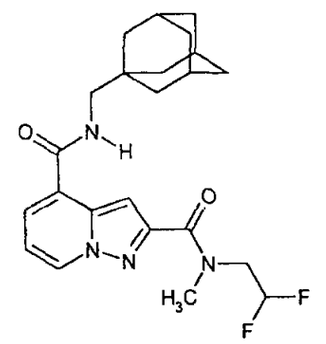
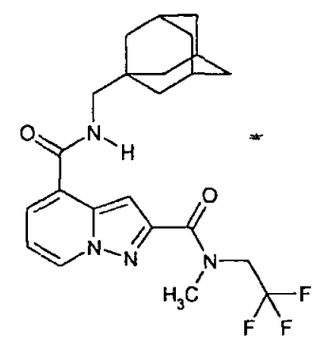
Compound	Name	MS	R_T	IC_{50}
54 	N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-{[methyl(pyridin-3-ylmethyl)amino]methyl}pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide	444.4	1.21	*
55 	N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-{[methyl(pyrazin-2-ylmethyl)amino]methyl}pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide	445.4	1.21	*
Chiral 56 	2-{[(3R)-3-aminopyrrolidin-1-yl]carbonyl}-N-(4-methyl-2-pyridin-3-ylpentyl)pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide	435.4	1	*
Chiral 57 	2-{[(3R)-3-aminopyrrolidin-1-yl]carbonyl}-N-[(1-pyridin-3-ylcyclohexyl)methyl]pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide	447.4	0.96	*

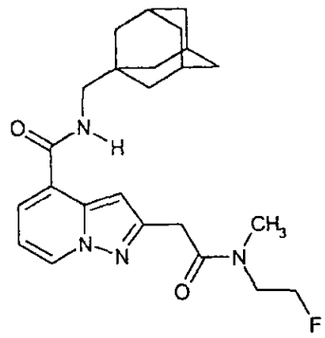
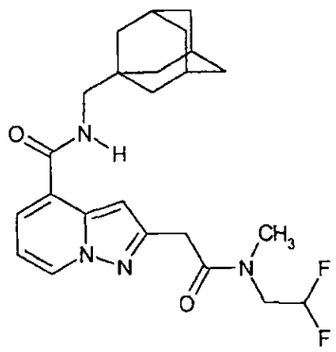
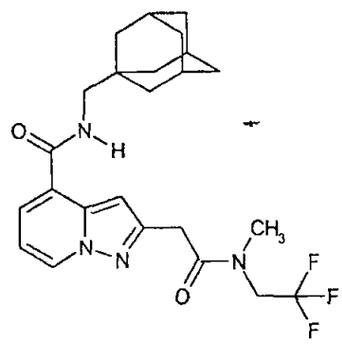
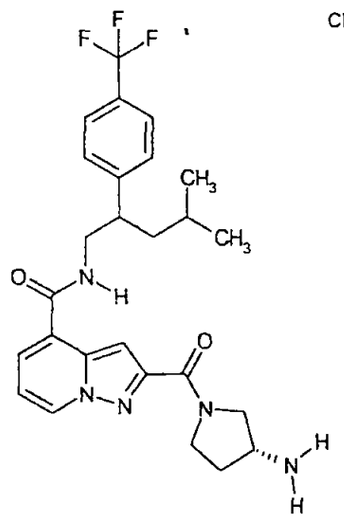
Compound		Chiral	Name	MS	R_T	IC_{50}
58			2-{[(3R)-3-aminopyrrolidin-1-yl]carbonyl}-N-(2-cyclohexyl-4-methylpentyl)pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide	440.4	1.28	
59			N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-{2-[(2-fluoroethyl)amino]-2-oxoethyl}pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide	413.3	1.26	*
60			N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-{2-[(2,2-difluoroethyl)amino]-2-oxoethyl}pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide	431.3	1.28	*
61			N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-{2-oxo-2-[(2,2,2-trifluoroethyl)amino]ethyl}pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide	449.3	1.29	*

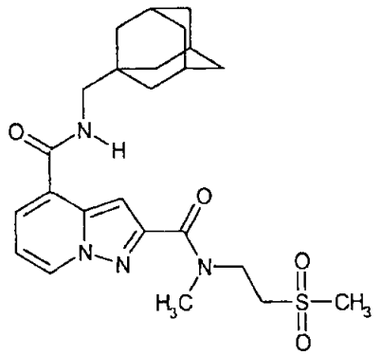
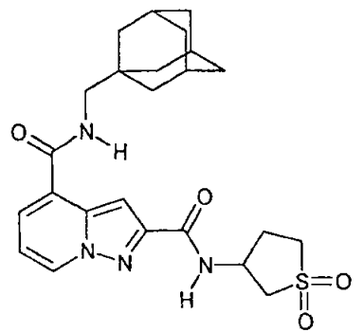
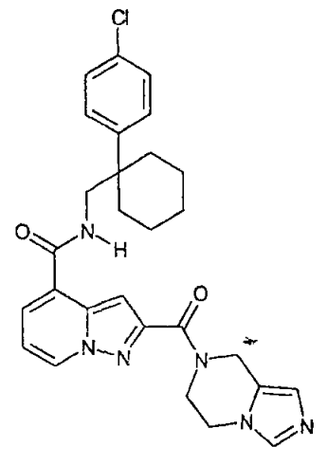
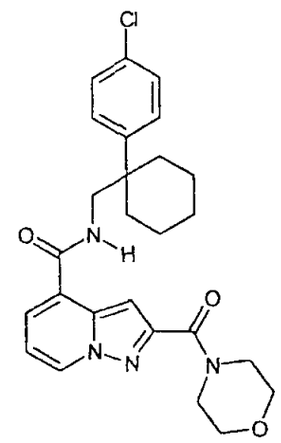
Compound	Name	MS	R_T	IC_{50}
62 	4-N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-N-(2-fluoroethyl)pyrazolo[1,5-a]pyridine-2,4-dicarboxamide	399.3	1.28	*
63 	4-N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-N-(2,2-difluoroethyl)pyrazolo[1,5-a]pyridine-2,4-dicarboxamide	417.3	1.29	*
64 	4-N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-N-(2,2,2-trifluoroethyl)pyrazolo[1,5-a]pyridine-2,4-dicarboxamide	435.3	1.31	*
65 	4-N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-N-(2-fluorobenzyl)-2-N-methylpyrazolo[1,5-a]pyridine-2,4-dicarboxamide	475.3	1.36	*

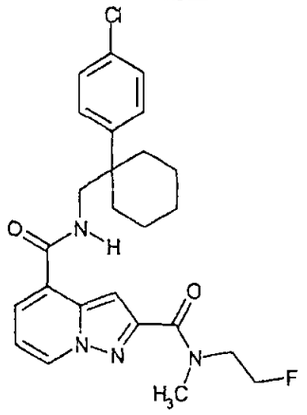
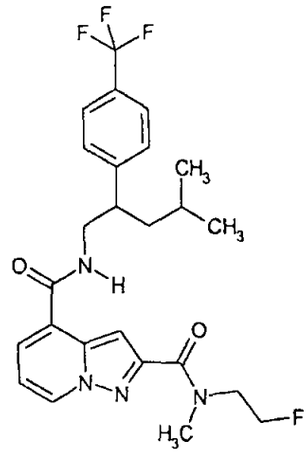
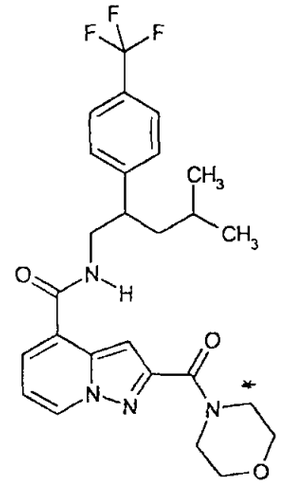
Compound		Name	MS	R_T	IC_{50}
66		4-N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-N-(3-fluorobenzyl)-2-N-methylpyrazolo[1,5-a]pyridine-2,4-dicarboxamide	475.3	1.35	*
67		4-N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-N-(4-fluorobenzyl)-2-N-methylpyrazolo[1,5-a]pyridine-2,4-dicarboxamide	475.3	1.35	*
68		N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-{[(2-fluorobenzyl)(methyl)amino]methyl}pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide	461.4	1.24	*
69		N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-{[(3-fluorobenzyl)(methyl)amino]methyl}pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide	461.4	1.24	*

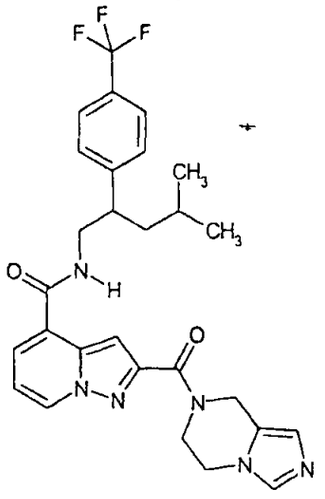
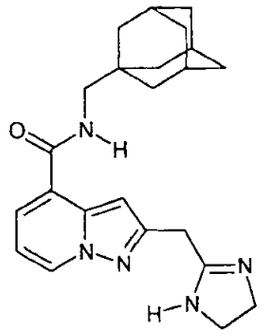
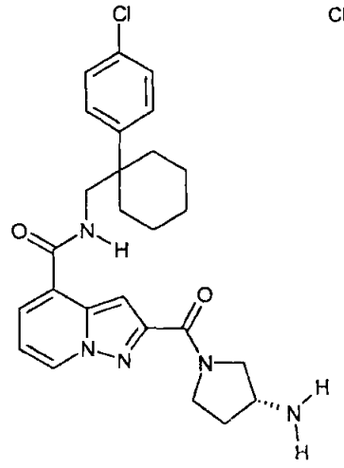
Compound	Name	MS	R_T	IC_{50}
70  Chiral	N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-{[(4-fluorobenzyl)(methyl)amino]methyl}pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide	461.4	1.25	*
71  Chiral	2-{[(3R)-3-aminopyrrolidin-1-yl]carbonyl}-N-[2-(4-chlorophenyl)-4-methylpentyl]pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide	468.3	1.23	*
72 	2-{[(3R)-3-aminopyrrolidin-1-yl]carbonyl}-N-(3-cyclohexyl-2-phenylpropyl)pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide	474.4	1.27	*

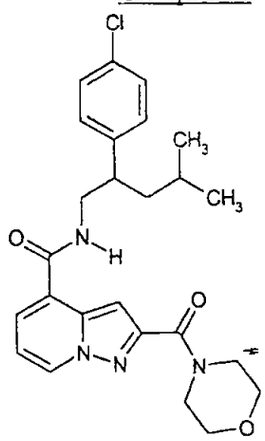
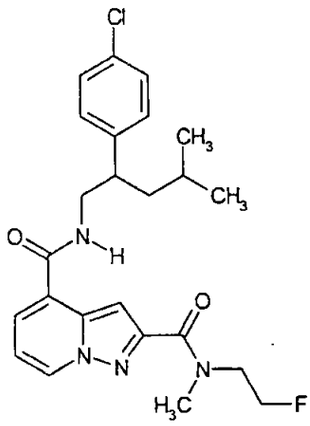
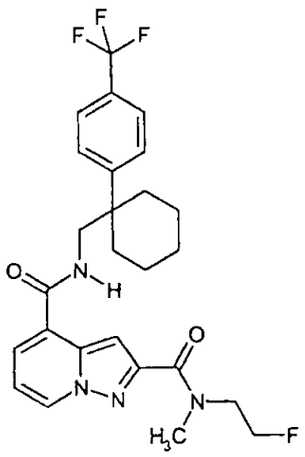
Compound	Chiral	Name	MS	R_T	IC_{50}
73		2-{[(3R)-3-aminopyrrolidin-1-yl]carbonyl}-N-[4-methyl-2-(4-methylphenyl)pentyl]pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide	461.5	1.41	*
74		4-N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-N-(2-fluoroethyl)-2-N-methylpyrazolo[1,5-a]pyridine-2,4-dicarboxamide	413.3	1.3	*
75		4-N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-N-(2,2-difluoroethyl)-2-N-methylpyrazolo[1,5-a]pyridine-2,4-dicarboxamide	431.3	1.31	*
76		4-N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-N-methyl-2-N-(2,2,2-trifluoroethyl)pyrazolo[1,5-a]pyridine-2,4-dicarboxamide	449.3	1.33	*

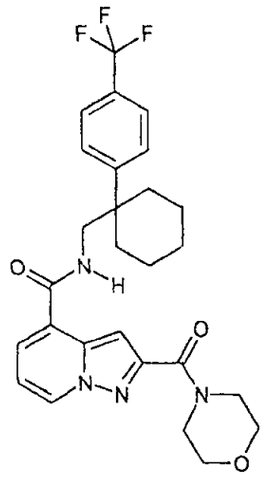
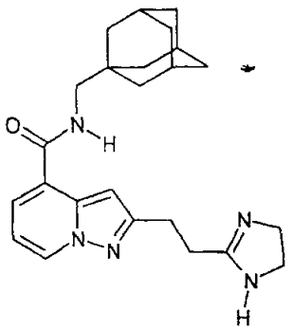
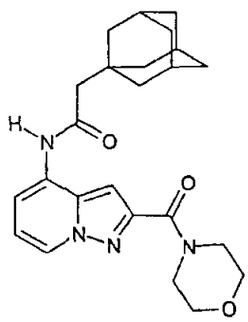
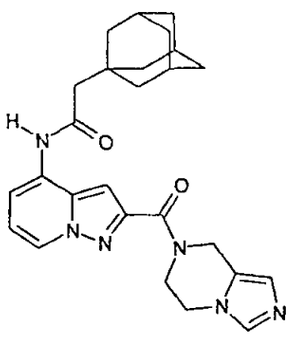
Compound	Name	MS	R_T	IC_{50}
77 	N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-{2-[(2-fluoroethyl)(methyl)amino]-2-oxoethyl}pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide	427.3	1.29	*
78 	N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-{2-[(2,2-difluoroethyl)(methyl)amino]-2-oxoethyl}pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide	445.3	1.3	*
79 	N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-{2-[methyl(2,2,2-trifluoroethyl)amino]-2-oxoethyl}pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide	463.3	1.32	*
80 Chiral 	2-{[(3R)-3-aminopyrrolidin-1-yl]carbonyl}-N-{4-methyl-2-[4-(trifluoromethyl)phenyl]pentyl}pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide	502.3	1.25	*

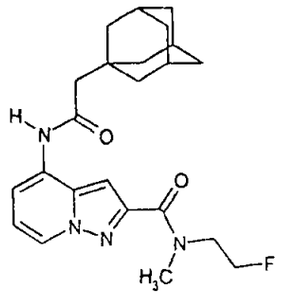
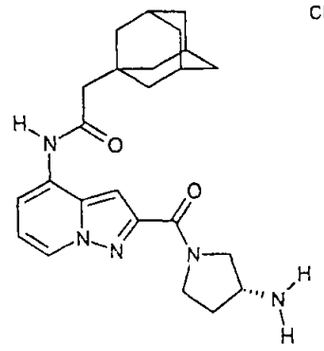
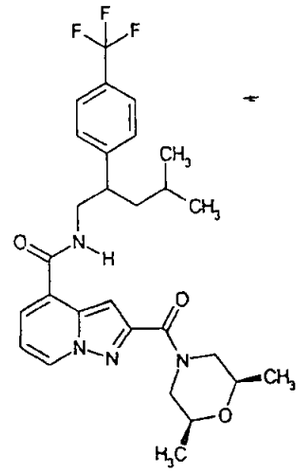
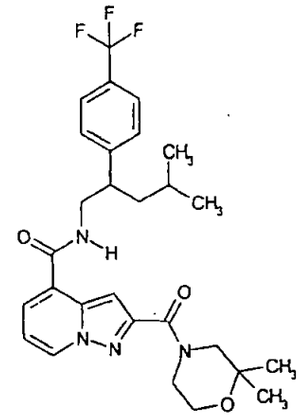
Compound	Name	MS	R_T	IC_{50}
81 	4-N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-N-methyl-2-N-[2-(methylsulfonyl)ethyl]pyrazolo[1,5-a]pyridine-2,4-dicarboxamide	473.3	1.26	
82 	4-N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-N-(1,1-dioxidotetrahydrothiophen-3-yl)pyrazolo[1,5-a]pyridine-2,4-dicarboxamide	471.3	1.28	*
83 	N-{[1-(4-chlorophenyl)cyclohexyl]methyl}-2-(5,6-dihydroimidazo[1,5-a]pyrazin-7(8H)-ylcarbonyl)pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide	517.3	1.25	*
84 	N-{[1-(4-chlorophenyl)cyclohexyl]methyl}-2-(morpholin-4-ylcarbonyl)pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide	481.3	1.33	*

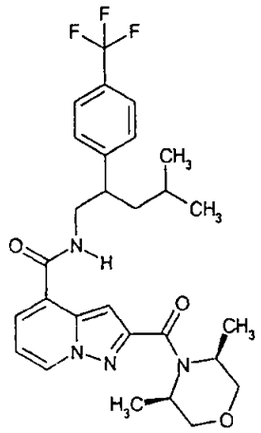
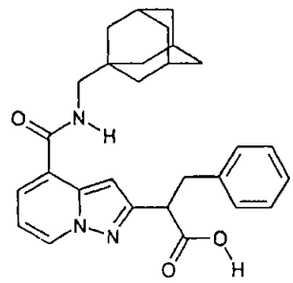
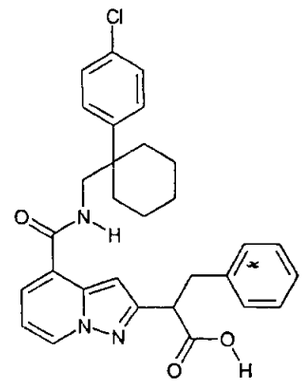
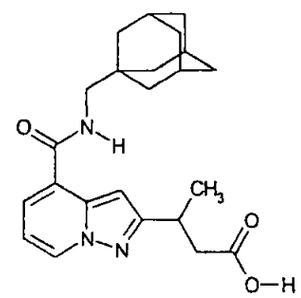
Compound	Name	MS	R_T	IC_{50}
85 	4-N-{[1-(4-chlorophenyl)cyclohexyl]methyl}-2-N-(2-fluoroethyl)-2-N-methylpyrazolo[1,5-a]pyridine-2,4-dicarboxamide	471.3	1.33	*
86 	2-N-(2-fluoroethyl)-2-N-methyl-4-N-{4-methyl-2-[4-(trifluoromethyl)phenyl]pentyl}pyrazolo[1,5-a]pyridine-2,4-dicarboxamide	493.3	1.34	*
87 	N-{4-methyl-2-[4-(trifluoromethyl)phenyl]pentyl}-2-(morpholin-4-ylcarbonyl)pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide	503.3	1.33	*

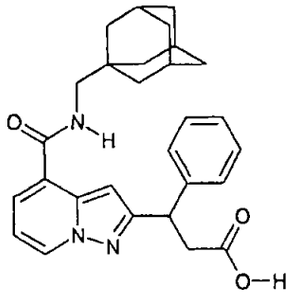
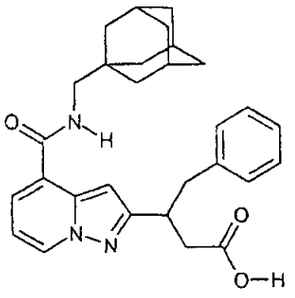
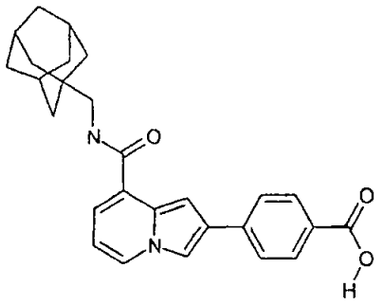
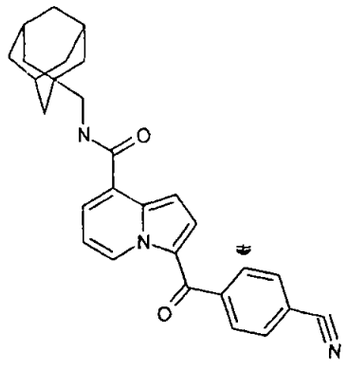
Compound	Name	MS	R_T	IC_{50}
88 	2-(5,6-dihydroimidazo[1,5-a]pyrazin-7(8H)-ylcarbonyl)-N-{4-methyl-2-[4-(trifluoromethyl)phenyl]pentyl}pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide	539.3	1.25	*
89 	N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-(4,5-dihydro-1H-imidazol-2-ylmethyl)pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide	405.5	1.31	*
90  Chiral	2-{[(3R)-3-aminopyrrolidin-1-yl]carbonyl}-N-{[1-(4-chlorophenyl)cyclohexyl]methyl}pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide	480.3	1.25	*

Compound	Name	MS	R_T	IC_{50}
91 	N-[2-(4-chlorophenyl)-4-methylpentyl]-2-(morpholin-4-ylcarbonyl)pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide	468.98	1.32	*
92 	Pyrazolo[1,5-a]pyridine-2,4-dicarboxylic acid 4-{[2-(4-chloro-phenyl)-4-methyl-pentyl]-amide} 2-[(2-fluoro-ethyl)-methyl-amide]	458.96	1.33	*
93 	Pyrazolo[1,5-a]pyridine-2,4-dicarboxylic acid 2-[(2-fluoro-ethyl)-methyl-amide]-4-{[1-(4-trifluoromethyl-phenyl)-cyclohexylmethyl]-amide}	504.52	1.33	*

Compound		Name	MS	R_T	IC_{50}
94		2-(morpholin-4-ylcarbonyl)-N-({1-[4-(trifluoromethyl)phenyl]cyclohexyl}methyl)pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide	514.54	1.33	*
95		N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-[2-(4,5-dihydro-1H-imidazol-2-yl)ethyl]pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide	405.54	1.21	*
96		2-adamantan-1-yl-N-[2-(morpholin-4-ylcarbonyl)pyrazolo[1,5-a]pyridin-4-yl]acetamide	422.52	1.33	*
97		2-adamantan-1-yl-N-[2-(5,6-dihydroimidazo[1,5-a]pyrazin-7(8H)-ylcarbonyl)pyrazolo[1,5-a]pyridin-4-yl]acetamide	458.56	1.23	*

Compound	Name	MS	R_T	IC_{50}
98 	4-[(adamantan-1-ylacetyl)amino]-N-(2-fluoroethyl)-N-methylpyrazolo[1,5-a]pyridine-2-carboxamide	412.50	1.33	*
99  Chiral	2-adamantan-1-yl-N-(2-{[(3R)-3-aminopyrrolidin-1-yl]carbonyl}pyrazolo[1,5-a]pyridin-4-yl)acetamide	421.54	1.22	*
100 	rel-2-{[(2R,6S)-2,6-dimethylmorpholin-4-yl]carbonyl}-N-{4-methyl-2-[4-(trifluoromethyl)phenyl]pentyl}pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide	530.58	1.36	*
101 	2-[(2,2-dimethylmorpholin-4-yl)carbonyl]-N-{4-methyl-2-[4-(trifluoromethyl)phenyl]pentyl}pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide	530.58	1.36	*

Compound	Name	MS	R_T	IC_{50}
102 	rel-2-{[(3R,5S)-3,5-dimethylmorpholin-4-yl]carbonyl}-N-{4-methyl-2-[4-(trifluoromethyl)phenyl]pentyl}pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide	530.58	1.36	*
103 	2-{4-[(adamantan-1-ylmethyl)carbamoyl]pyrazolo[1,5-a]pyridin-2-yl}-3-phenylpropanoic acid	457.56	1.30	*
104 	2-[4-({[1-(4-chlorophenyl)cyclohexyl]methyl}carbamoyl)pyrazolo[1,5-a]pyridin-2-yl]-3-phenylpropanoic acid	516.03	1.38	*
105 	3-{4-[(adamantan-1-ylmethyl)carbamoyl]pyrazolo[1,5-a]pyridin-2-yl}butanoic acid	395.49	1.32	*

Compound	Name	MS	R_T	IC_{50}
106 	3-{4-[(adamantan-1-ylmethyl)carbamoyl]pyrazolo[1,5-a]pyridin-2-yl}-3-phenylpropanoic acid	457.56	1.36	*
107 	3-{4-[(adamantan-1-ylmethyl)carbamoyl]pyrazolo[1,5-a]pyridin-2-yl}-4-phenylbutanoic acid	471.59	1.38	*
108 	4-{8-[(adamantan-1-ylmethyl)carbamoyl]indolizin-2-yl}benzoic acid	428.11	1.58	*
109 	N-(adamantan-1-ylmethyl)-3-(4-cyanobenzoyl)indolizine-8-carboxamide	438.23	1.39	*

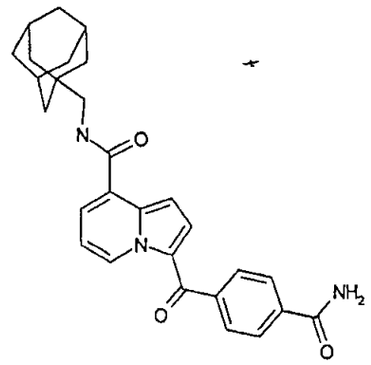
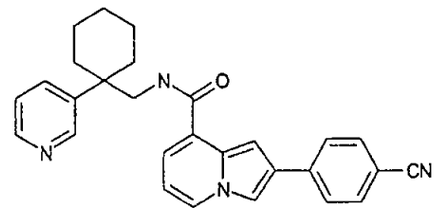
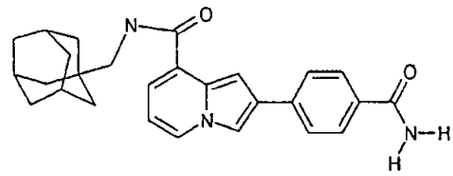
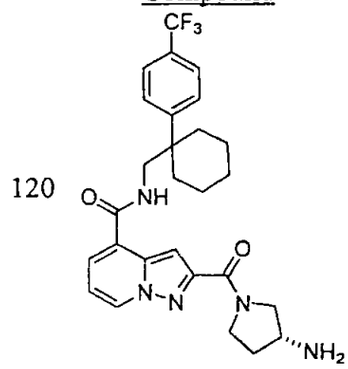
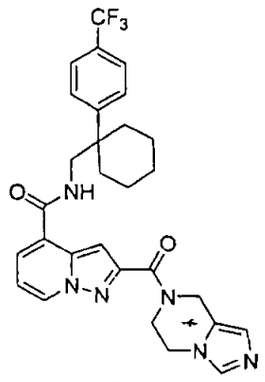
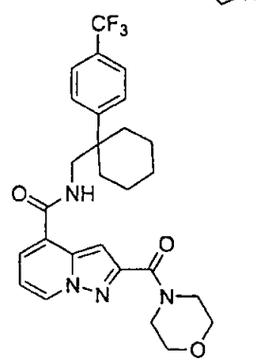
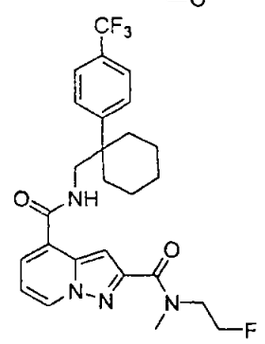
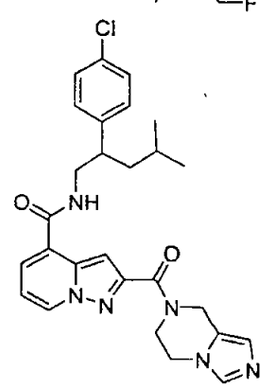
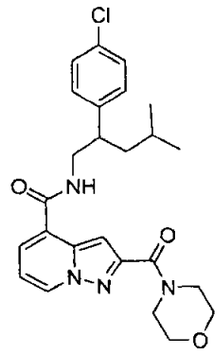
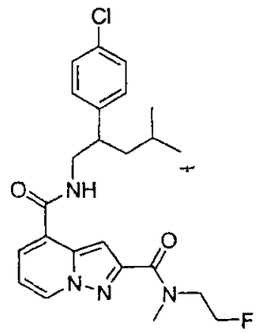
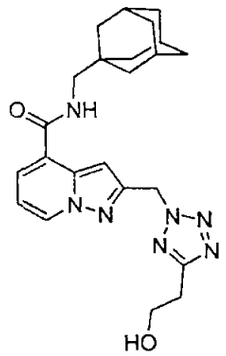
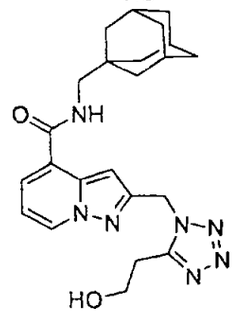
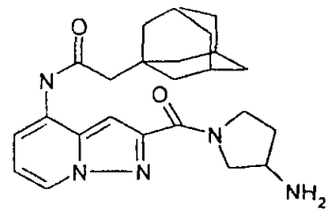
Compound	Name	MS	R_T	IC_{50}
110 	N-(adamantan-1-ylmethyl)-3-(4-carbamoylbenzoyl)indolizine-8-carboxamide	456.21	1.33	*
111 	2-(4-cyanophenyl)-N-[(1-pyridin-3-ylcyclohexyl)methyl]indolizine-8-carboxamide	435.20	1.17	
112 	N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-(4-carbamoylphenyl)indolizine-8-carboxamide	428.22	1.31	*

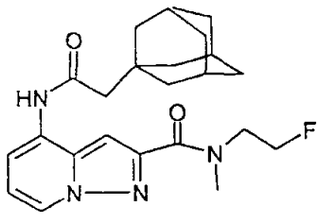
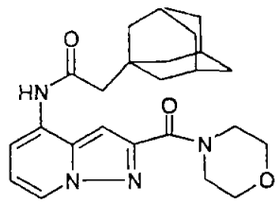
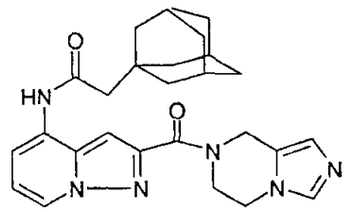
Table II

Additional Representative Heteroaryl Amide Analogues

Compound	Name
120 	(R)-2-(3-aminopyrrolidine-1-carbonyl)-N-((1-(4-(trifluoromethyl)phenyl)cyclohexyl)methyl)H-pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide

121		2-(5,6,7,8-tetrahydroimidazo[1,5-a]pyrazine-7-carbonyl)-N-((1-(4-(trifluoromethyl)phenyl)cyclohexyl)methyl)H-pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide
122		2-(morpholine-4-carbonyl)-N-((1-(4-(trifluoromethyl)phenyl)cyclohexyl)methyl)H-pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide
123		Pyrazolo[1,5-a]pyridine-2,4-dicarbo xylic acid 2-[(2-fluoro-ethyl)-meth yl-amide] 4-{[1-(4-trifluoromethyl-phenyl)-cyclohexylmethyl]-amide}
124		N-(2-(4-chlorophenyl)-4-methylpentyl)-2-(5,6,7,8-tetrahydroimidazo[1,5-a]pyrazine-7-carbonyl)H-pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide

125		N-(2-(4-chlorophenyl)-4-methylpentyl)-2-(morpholine-4-carbonyl)H-pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide
126		Pyrazolo[1,5-a]pyridine-2,4-dicarbo xylic acid 2-[(2-fluoro-ethyl)-meth yl-amide] 4-{[4-methyl-2-(4-trifluo romethyl-phenyl)-pentyl]-amide}
127		N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-{[5-(2-hydroxyethyl)-2H-tetrazol-2-yl]methyl}pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide
128		N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-{[5-(2-hydroxyethyl)-1H-tetrazol-1-yl]methyl}pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide
129		N-[2-(3-Amino-pyrrolidine-1-carbonyl)-pyrazolo[1,5-a]pyridin-4-yl]-2-(3-ethyl-bicyclo[3.3.1]non-1-yl)-acetamide

130		4-[2-(3-Ethyl-bicyclo[3.3.1]non-1-y l)-acetylamino]-pyrazolo[1,5-a]pyri dine-2-carboxylic acid (2-fluoro-et hyl)-methyl-amide
131		2-(3-Ethyl-bicyclo[3.3.1]non-1-yl)- N-[2-(morpholine-4-carbonyl)-pyrazolo[1,5-a]pyridin-4-yl]-acetamide
132		N-[2-(5,6-Dihydro-8H-imidazo[1,5-a] pyrazine-7-carbonyl)-pyrazolo[1,5-a]pyridin-4-yl]-2-(3-ethyl-bicyclo[3 .3.1]non-1-yl)-acetamide

EXAMPLE 4

P2X$_7$ Assays

This Example illustrates representative assays for use in evaluating test compounds for agonist and antagonist activity.

A. HIGH THROUGHPUT P2X$_7$ CALCIUM MOBILIZATION ASSAY

SH-SY5Y cells, ATCC Number CRL-2266, (American Type Culture Collection, Manassas, VA) are cultured under DMEM/High medium supplemented with 10% FBS, and 10 mM HEPES (Invitrogen Corp., Carlsbad, CA) in 5% CO_2 and at 37 °C. One day prior to the experiment, cells are plated at a density of 100,000 cells/well in a 96 well black/clear TC plate (Corning® Costar®, Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO). At the beginning of the experiment, the culture medium is removed and cells are incubated with 50 µL of 2.3 µM Fluo-4 AM dye (Invitrogen Corp.) in the assay solution (5 mM KCl, 9.6 mM $NaH_2PO_4{\cdot}H_2O$, 25 mM HEPES, 280 mM Sucrose, 5 mM Glucose, and 0.5 mM $CaCl_2$; pH is adjusted to 7.4 with NaOH) for an hour at 37 °C. After one hour dye incubation, wells are rinsed once with 50 µL assay solution, and are then incubated for an hour at room temperature with 100 µL assay solution containing the test compound. The final concentration of test compound generally ranges from 1 to 2500 nM; for positive control cells, no test compound is

added. After the one hour incubation, plates are transferred to a FLIPR^{TETRA} instrument (Molecular Devices, Sunnyvale, CA) for calcium mobilization analysis.

For determination of antagonist activity, 50 μL of $P2X_7$ agonist (2'(3')-O-(4-benzoyl-benzoyl)adenosine 5'-triphosephate (BzATP; Sigma-Aldrich) in the assay solution is transferred using the FLIPR into the plate, such that the final agonist concentration is 80 μM (about EC_{50}). In negative control cells, 50 μL of assay solution without agonist is added at this stage. The peak fluorescence signal over a 2 minute period is then measured.

The data is analyzed as follows. First, the average maximum relative fluorescent unit (RFU) response from the negative control wells (no agonist) is subtracted from the maximum response detected for each of the other experimental wells. Second, average maximum RFU response is calculated for the positive control wells (agonist wells). Then, percent inhibition for each compound tested is calculated using the equation:

Percent Inhibition = 100 – 100 × (Peak Signal in Test Cells / Peak Signal in Control Cells)

The % inhibition data is plotted as a function of test compound concentration and test compound IC_{50} is determined using, for example, KALEIDAGRAPH software (Synergy Software, Reading, PA) best fit of the data to the equation:

$$y = m_1*(1/(1+(m_2/m_0)^{m3}))$$

where y is the percent inhibition, m_0 is the concentration of the agonist, m_1 is the maximum RFU, m_2 corresponds to the test compound IC_{50} (the concentration required to provide a 50% decrease, relative to the response observed in the presence of agonist and without antagonist) and m_3 is the Hill coefficient. Alternatively, test compound IC_{50} is determined using a linear regression in which x is ln(concentration of test compound) and y is ln(percent inhibition/(100 - percent inhibition). Data with a percent inhibition that is greater than 90% or less than 15% are rejected and are not used in the regression. The IC_{50} calculated in this fashion is $e^{(-intercept/slope)}$. For antagonists of the $P2X_7$, the calculated IC_{50} is preferably below 20 micromolar, more preferably below 10 micromolar, even more preferably below 5 micromolar and most preferably below 1 micromolar.

Similar assays are performed in the absence of added agonist for the determination of agonist activity of the test compounds. Within such assays, the

ability of a test compound to act as an agonist of $P2X_7$ is determined by measuring the fluorescence response elicited by the test compound as a function of compound concentration. $P2X_7$ antagonists that exhibit no detectable agonist activity elicit no detectable fluorescence response at a concentration of 2,500 nM.

B. ELECTROPHYSIOLOGICAL $P2X_7$ ASSAYS

SH-SY5Y cells are cultured under DMEM/High medium supplemented with 10% FBS, and 10 mM HEPES (Invitrogen Corp., Carlsbad, CA) in 5% CO_2 and at 37 °C, and are split onto 12 mm round Poly-D-Lysine (PDL) coated coverslips (BD Biosciences, San Jose, CA) in a 35 mm dish with a density of 130K cells/dish a day prior to the experiment. Whole cell voltage clamp recordings are made with the Axopatch-200B amplifier (Axon Instruments, Foster City, CA). The recording electrodes are pulled from borosilicate pipettes (World Precision Instruments, Sarasota, FL) on a horizontal puller (Sutter Instrument Model P-87) and have resistances ranging from 2 to 3 MΩ when backfilled with internal solution. All voltage protocols are generated using pClamp 8 (Axon Instruments) software. Data are digitized at 1 or 5 kHz and recorded onto a PC for further analysis. Data are analyzed using Clampfit (Axon Instruments), Excel (Microsoft, Redmond, WA), and Origin software (MicroCal, LLC; Northampton, MA). All whole-cell recordings are conducted at room temperature. Internal solution contains (in mM): 100 KF, 40 KCl, 5 NaCl, 10 EGTA and 10 HEPES (pH = 7.4 adjusted with KOH). The external solution contains 70 mM NaCl, 0.3 mM $CaCl_2$, 5 mM KCl, 20 mM HEPES, 10 mM glucose, and 134 mM sucrose (pH = 7.4 adjusted with NaOH). All chemicals are from Sigma, unless otherwise stated.

$P2X_7$ is activated by 200 μM of $P2X_7$ agonist, BzATP. At a holding potential of -80 mV, the activated inward current is recorded in the presence and absence of the test compound. Then, percent inhibition for each compound tested is calculated using the equation:

% Inhibition = 100 – 100 × (Current Amplitude in Compound / Current Amplitude in Control).

To determine a test compound's IC_{50} for $P2X_7$ electrophysiologically, several concentrations of the compound are tested and their inhibitions on $P2X_7$ currents are calculated as above. This dose-response curve is best fitted using Origin software (Microcal, MA) with the following equation:

- Percent Inhibition = $100/(1 + (IC_{50}/C)^N)$

where C is the concentration of the antagonist, N is the Hill coefficient, and IC_{50} represents the compound IC_{50} value against $P2X_7$.

EXAMPLE 5

Carrageenan-Induced Mechanical Hyperalgesia (Paw Pressure) Assay for Determining Pain Relief

This Example illustrates a representative method for assessing the degree of pain relief provided by a test compound.

Adult male Sprague Dawley rats (200-300g; obtained from Harlan Sprague Dawley, Inc., Indianapolis, IN) are housed under a 12 h light/dark cycle with access to food and water *ad libitum*. For the assay, all animals are habituated once, baselined twice and tested once, with each procedure being conducted on a separate day. Prior to each day's procedure, animals are allowed to acclimate for at least 1 hour in the testing room before the start of the procedure. For habituation, each animal is gently restrained with each hindpaw consecutively extended in front of the animal as is necessary for testing. This procedure is performed by alternating hindpaws and repeated three times for each hindpaw. Animals are then subjected to the first baseline, second baseline and testing on consecutive days. For each baseline, the animal is restrained as in the habituation session and the paw tested using the paw pressure testing apparatus (Digital Randall Selitto, IITC Inc., Woodland Hills, CA). Animals are baselined and tested in groups of ten, each animal being tested once on the left and right hindpaws, followed by the next consecutive animal. This procedure is repeated three times for a total of three measurements on each hindpaw. If any individual read is drastically different (varies by more than about 100 g) from the other two on a given hindpaw, the hindpaw is retested a 4th time, and the average of the three most consistent scores is used. On test day, all animals are injected with 0.1 mL intraplantar 0.5% -1.5% carrageenan (dissolved in saline) 3 hours prior to testing. Test compounds or vehicle may be administered by various routes at various timepoints prior to testing, but for any particular assay, the routes and timepoints are the same for animals in each treatment group administered test compound (a different dosage of test compound may be administered to each such group) and those in the treatment group administered vehicle control. If a compound is orally administered,

the animals are food-deprived the evening before testing. As with the baseline, each hindpaw is tested three times and the results recorded for analysis.

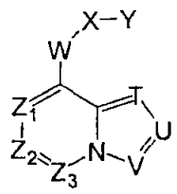
Hypersensitivity of nociception values are calculated for each treatment group as the mean of the left foot gram force scores on test day (left foot only or LFO score). Statistical significance between treatment groups is determined by running an ANOVA on LFO scores followed with a least significant difference (LSD) post hoc test. A $p<0.05$ is considered to be a statistically significant difference.

Compounds are said to relieve pain in this model if they result in a statistically significant reduction in hypersensitivity of nociception values compared to vehicle controls, determined as described above, when administered (0.01-50 mg/kg, orally, parenterally or topically) immediately prior to testing as a single bolus, or for several days: once or twice or three times daily prior to testing.

CLAIMS

What is claimed is:

1. A compound of the formula:



or a pharmaceutically acceptable salt thereof, wherein:

T, U and V are independently chosen from CR_3, CR_A and N, such that

(i) exactly one of T, U and V is CR_A; and

(ii) if X is CH_2, Y is phenyl, and U and V are both substituted carbon, then T is not N;

W is $-C(=O)NR_4-$, $-NR_4C(=O)-$ or $-NR_4-NR_4-C(=O)-$;

X is absent or C_1-C_6alkylene that is substituted with from 0 to 4 substituents independently chosen from:

(i) C_1-C_4alkyl, (C_3-C_8cycloalkyl)C_0-C_2alkyl and phenylC_0-C_2alkyl;

(ii) substituents that are taken together to form a 3- to 7-membered cycloalkyl or heterocycloalkyl ring; and

(iii) substituents that are taken together with R_4 to form a 4- to 7-membered heterocycloalkyl;

Y is C_3-C_{16}cycloalkyl, 4- to 16-membered heterocycloalkyl, 6- to 16-membered aryl or 5- to 16-membered heteroaryl, each of which is substituted with from 0 to 6 substituents independently chosen from hydroxy, halogen, cyano, amino, nitro, oxo, aminocarbonyl, aminosulfonyl, COOH, C_1-C_6alkyl, C_2-C_6alkenyl, C_2-C_6alkynyl, C_1-C_6haloalkyl, C_1-C_6hydroxyalkyl, C_1-C_6aminoalkyl, C_1-C_6alkoxy, C_1-C_6haloalkoxy, C_2-C_6alkyl ether, C_1-C_6alkanoyl, C_1-C_6alkylsulfonyl, (C_3-C_7cycloalkyl)C_0-C_4alkyl, mono- or di-(C_1-C_6alkyl)amino, C_1-C_6alkanoylamino, mono- or di-(C_1-C_6alkyl)aminocarbonyl, mono- or di-(C_1-C_6alkyl)aminosulfonyl and (C_1-C_6alkyl)sulfonylamino;

Z_1 and Z_3 are independently N or CR_2;

Z_2 is N, CR_2 or CR_A;

Each R_2 and each R_3 is independently chosen from hydrogen, halogen, cyano, amino, nitro, aminocarbonyl, aminosulfonyl, COOH, C_1-C_6alkyl, C_2-C_6alkenyl, C_2-C_6alkynyl, C_1-C_6haloalkyl, C_1-C_6hydroxyalkyl, C_1-C_6aminoalkyl, C_1-C_6alkoxy, C_1-C_6haloalkoxy, C_1-C_6alkanoyl, C_2-C_6alkyl ether, (C_3-C_7cycloalkyl)C_0-C_4alkyl, mono- or di-(C_1-C_6alkyl)amino, C_1-C_6alkylsulfonyl, C_1-C_6alkanoylamino, mono- or di-(C_1-C_6alkyl)aminocarbonyl, mono- or di-(C_1-C_6alkyl)aminosulfonyl and (C_1-C_6alkyl)sulfonylamino;

Each R_4 is independently hydrogen, C_1-C_6alkyl, (C_3-C_8cycloalkyl)C_0-C_2alkyl or taken together with a substituent of X to form a 4- to 7-membered heterocycloalkyl;

R_A is a group of the formula -L-A-M, wherein:

L is absent or C_1-C_6alkylene that is optionally modified by the replacement of a carbon-carbon single bond with a double or triple carbon-carbon bond, which alkylene is optionally substituted with oxo, –COOH, $–SO_3H$, $–SO_2NH_2$, $–PO_3H_2$, tetrazole or oxadizaolone;

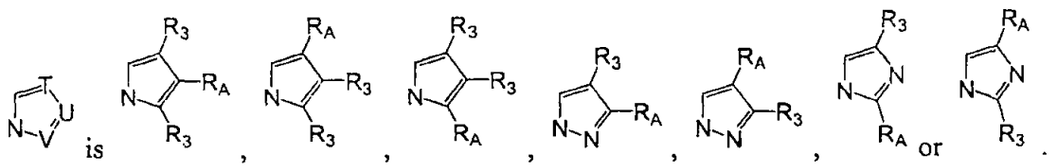
A is absent or CO, O, NR_6, S, SO, SO_2, $CONR_6$, NR_6CO, (C_4-C_7cycloalkyl)C_0-C_4alkylene or (4- to 7-membered heterocycloalkyl)C_0-C_4alkylene; wherein R_6 is hydrogen or C_1-C_6alkyl; and

M is:

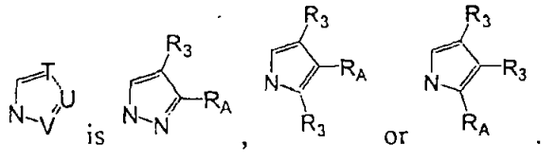
(i) hydroxy, cyano, amino, aminocarbonyl, aminosulfonyl or COOH; or

(ii) C_1-C_6haloalkyl, C_1-C_6alkoxy, 5- to 10-membered carbocycle, 4- to 10-membered heterocycle, C_1-C_6alkanoyloxy, C_1-C_6alkanoylamino, C_1-C_6alkylsulfonyl, C_1-C_6alkylsulfonylamino, C_1-C_6alkylsulfonyloxy, mono- or di-C_1-C_6alkylamino, mono- or di-(C_1-C_6alkyl)aminosulfonyl, or mono- or di-(C_1-C_6alkyl)aminocarbonyl; each of which is optionally substituted and each of which is preferably substituted with from 0 to 4 substituents independently chosen from oxo, amino, halogen, hydroxy, cyano, aminocarbonyl, aminosulfonyl, COOH, C_1-C_6alkyl, C_1-C_6hydroxyalkyl, C_1-C_6haloalkyl, C_1-C_6alkoxy, C_1-C_6haloalkoxy, C_2-C_6alkyl ether, C_1-C_6alkanoylamino, mono- or di-(C_1-C_6alkyl)amino, C_1-C_6alkylsulfonyl, C_1-C_6alkylsulfonylamino, mono- or di-(C_1-C_6alkyl)aminosulfonyl, mono- or di-(C_1-C_6alkylamino)carbonyl, and 4- to 7-membered heterocycle.

2. A compound or salt thereof according to claim 1, wherein:



3. A compound or salt thereof according to claim 2, wherein:



4. A compound or salt thereof according to any one of claims 1-3, wherein each R_3 is independently hydrogen or C_1-C_4alkyl.

5. A compound or salt thereof according to any one of claims 1-4, wherein R_A is C_1-C_6hydroxyalkyl, C_1-C_6cyanoalkyl, C_2-C_6alkenyl, C_2-C_6alkyl ether, phenylC_0-C_4alkyl, (4- to 10-membered heterocycle)C_0-C_4alkyl, (C_1-C_6alkylsulfonylamino)C_0-C_4alkyl, (C_1-C_6alkanoyloxy)C_0-C_4alkyl, (C_1-C_6alkylsulfonyloxy)C_0-C_4alkyl, (mono- or di-C_1-C_6alkylamino)C_0-C_4alkyl, and (mono- or di-C_1-C_6alkylaminocarbonyl)C_0-C_4alkyl; each of which is substituted with from 0 to 4 substituents independently chosen from:

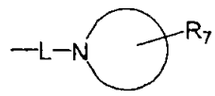
(i) oxo, halogen, amino, cyano, hydroxy, aminocarbonyl, aminosulfonyl and COOH; and

(ii) C_1-C_6alkyl, C_1-C_6hydroxyalkyl, C_1-C_6alkoxy, C_2-C_6alkyl ether, C_1-C_6alkanoylamino, mono- or di-(C_1-C_6alkyl)amino, C_1-C_6alkylsulfonyl, C_1-C_6alkylsulfonylamino, mono- or di-C_1-C_6alkylaminocarbonyl, mono- or di-C_1-C_6alkylaminosulfonyl, phenyl and 4- to 7-membered heterocycle; each of which is substituted with from 0 to 4 substituents independently chosen from halogen, hydroxy, amino, oxo, aminocarbonyl, aminosulfonyl, COOH, C_1-C_4alkyl and C_1-C_4haloalkyl.

6. A compound or salt thereof according to claim 5, wherein R_A is C_1-C_6hydroxyalkyl, C_1-C_6cyanoalkyl, C_2-C_6cyanoalkenyl, C_2-C_6alkyl ether, (mono- or di-C_1-C_6alkylamino)C_0-C_4alkyl, (mono- or di-C_1-C_6alkylaminocarbonyl)C_0-C_4alkyl, or (4- to 7-membered heterocycle)C_1-C_4alkyl; each of which is substituted with from 0 to 4 substituents independently chosen from amino, hydroxy, oxo, halogen, aminocarbonyl, aminosulfonyl, C_1-C_6alkyl, C_1-C_6hydroxyalkyl, C_1-C_6alkoxy, C_2-C_6alkyl ether, mono- or di-(C_1-C_6alkyl)amino,

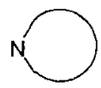
mono- or di-C_1-C_6alkylaminocarbonyl, C_1-C_6alkylsulfonyl, C_1-C_6alkylsulfonylamino, 4- to 7-membered heterocycloalkyl, and 5- or 6-membered heteroaryl.

7. A compound or salt thereof according to claim 5, wherein R_A is a group of the formula:



wherein:

L is absent or C_1-C_6alkylene that is optionally substituted with oxo;



represents a 4- to 7-membered heterocycloalkyl that is optionally fused to phenyl or to a 5- or 6-membered heteroaryl; and

R_7 represents from 0 to 4 substituents independently chosen from:

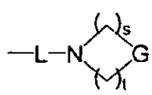
(i) hydroxy, amino, oxo, aminocarbonyl, aminosulfonyl and COOH;

(ii) C_1-C_6alkyl, mono- or di-(C_1-C_6alkyl)aminoC_0-C_4alkyl, C_1-C_6alkylsulfonylC_0-C_4alkyl, C_1-C_6alkylsulfonylaminoC_0-C_4alkyl, and 4- to 7-membered heterocycle; each of which is substituted with from 0 to 4 substituents independently chosen from halogen, hydroxy, amino, oxo, aminocarbonyl, aminosulfonyl, COOH, C_1-C_6alkyl, C_1-C_6alkoxy, mono- or di-(C_1-C_6alkyl)amino, and C_1-C_6alkylsulfonylamino;

(iii) substituents that are taken together to form a bridge of the Formula -$(CH_2)_q$-P-$(CH_2)_r$-, wherein q and r are independently 0 or 1 and P is CH_2, O, NH or S; and

(iv) substituents that are taken together to form a spiro 4- to 7-membered heterocycloalkyl ring that is substituted with from 0 to 2 substituents independently chosen from oxo and C_1-C_4alkyl.

8. A compound or salt thereof according to claim 7, wherein R_A is a group of the formula:



wherein:

L is C_1-C_2alkylene that is optionally substituted with oxo;

G is CHR_8, NH or O;

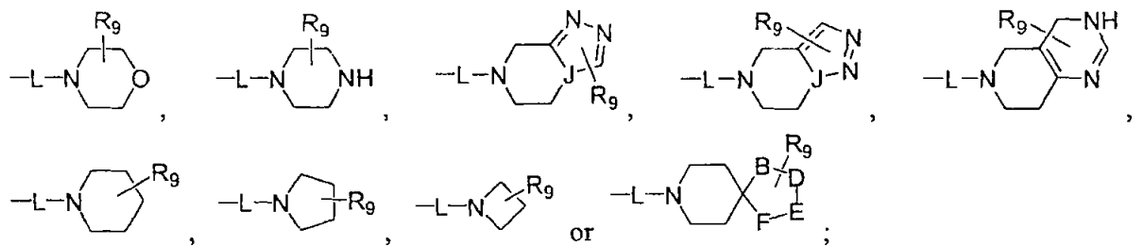
s and t are independently 0, 1, 2, 3 or 4, such that the sum of s and t ranges from 2 to 5; and

R_8 is:

(i) hydrogen, amino, aminocarbonyl, aminosulfonyl or COOH; or

(ii) C_1-C_6alkyl, mono- or di-(C_1-C_6alkyl)aminoC_0-C_4alkyl, C_1-C_6alkylsulfonylC_0-C_4alkyl, C_1-C_6alkylsulfonylaminoC_0-C_4alkyl, or 4- to 7-membered heterocycle; each of which is substituted with from 0 to 4 substituents independently chosen from halogen, hydroxy, amino, oxo, aminocarbonyl, aminosulfonyl, COOH, C_1-C_6alkyl, C_1-C_6alkoxy, mono- or di-(C_1-C_6alkyl)amino, and C_1-C_6alkylsulfonylamino.

9. A compound or salt thereof according to claim 7, wherein R_A is:



wherein:

J is CH or N;

B, D, E and F are independently chosen from CH_2, NH and O; and

R_9 represents from 0 to 2 substituents independently chosen from:

(i) amino, aminocarbonyl and COOH; and

(ii) C_1-C_6alkyl, mono- or di-(C_1-C_6alkyl)aminoC_0-C_2alkyl, C_1-C_6alkylsulfonyl and C_1-C_6alkylsulfonylamino; each of which is substituted with from 0 to 3 substituents independently chosen from halogen, hydroxy, oxo and COOH.

10. A compound or salt thereof according to claim 5, wherein R_A is C_1-C_6alkyl, C_2-C_6alkenyl, C_2-C_6alkyl ether, or mono- or di-(C_1-C_6alkyl)aminoC_0-C_4alkyl, each of which is substituted with from 1 to 4 substituents independently chosen from halogen, hydroxy, cyano, amino, oxo, aminocarbonyl, aminosulfonyl, COOH, C_1-C_6alkyl, C_1-C_6alkoxy, mono- or di-(C_1-C_6alkyl)amino, C_1-C_6alkanoylamino, C_1-C_6alkylsulfonyl, C_1-C_6alkylsulfonyloxy, C_1-C_6alkylsulfonylamino, phenyl that is optionally substituted with halogen or C_1-C_4alkyl, and 4- to 7-membered heterocycle that is optionally substituted with C_1-C_4alkyl.

11. A compound or salt thereof according to claim 10, wherein R_A is mono-(C_1-C_6alkyl)aminoC_0-C_2alkyl or C_2-C_6alkyl ether, each of which is substituted with from 1 to 4 substituents independently chosen from hydroxy, halogen, oxo, COOH, C_1-C_4alkyl and C_1-C_4alkoxy.

12. A compound or salt thereof according to any one of claims 1-4, wherein:

L is not absent;

A is absent; and

M is phenyl or a 5- or 6-membered heteroaryl, each of which is substituted with from 0 to 4 substituents independently chosen from oxo, amino, halogen, hydroxy, cyano, aminocarbonyl, aminosulfonyl, COOH, C_1-C_6alkyl, C_1-C_6hydroxyalkyl, C_1-C_6haloalkyl, C_1-C_6alkoxy, C_1-C_6haloalkoxy, C_2-C_6alkyl ether, C_1-C_6alkanoylamino, mono- or di-(C_1-C_6alkyl)amino, C_1-C_6alkylsulfonyl, C_1-C_6alkylsulfonylamino, mono- or di-(C_1-C_6alkyl)aminosulfonyl, mono- or di-(C_1-C_6alkylamino)carbonyl, and 4- to 7-membered heterocycle.

13. A compound or salt thereof according to any one of claims 1-4, wherein:

L is C_0-C_3alkylene that is optionally substituted with oxo or COOH;

A is absent; and

M is phenyl that is substituted with amino, cyano, aminocarbonyl, aminosulfonyl, COOH or C_1-C_6alkyl.

14. A compound or salt thereof according to any one of claims 1-4, wherein:

L is C_1-C_2alkylene that is optionally substituted with oxo;

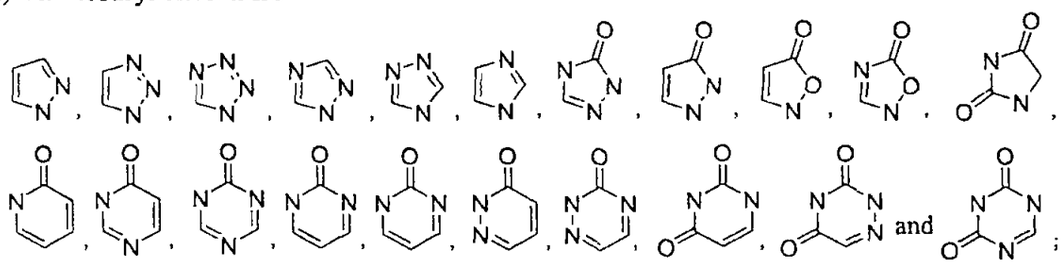
A is absent; and

M is mono- or di-(C_1-C_6alkyl)amino that is substituted with a 5- or 6-membered heteroaryl, each of which heteroaryl is substituted with from 0 to 4 substituents independently chosen from oxo, amino, halogen, hydroxy, cyano, aminocarbonyl, aminosulfonyl, COOH, C_1-C_6alkyl, C_1-C_6hydroxyalkyl, C_1-C_6haloalkyl, C_1-C_6alkoxy, C_1-C_6haloalkoxy, C_2-C_6alkyl ether, C_1-C_6alkanoylamino, mono- or di-(C_1-C_6alkyl)amino, C_1-C_6alkylsulfonyl, C_1-C_6alkylsulfonylamino, mono- or di-(C_1-C_6alkyl)aminosulfonyl, mono- or di-(C_1-C_6alkylamino)carbonyl, and 4- to 7-membered heterocycle.

15. A compound or salt thereof according to claim 12 or claim 14, wherein the 5- or 6-membered heteroaryl is:

(i) pyridyl or pyrimidinyl, each of which is substituted with from 0 to 4 substituents independently chosen from oxo, amino, halogen, hydroxy, cyano, aminocarbonyl, aminosulfonyl, COOH, C_1-C_6alkyl, C_1-C_6hydroxyalkyl, C_1-C_6alkoxy, C_2-C_6alkyl ether, C_1-C_6alkanoylamino, mono- or di-(C_1-C_6alkyl)amino, C_1-C_6alkylsulfonyl, C_1-C_6alkylsulfonylamino, mono- or di-(C_1-C_6alkyl)aminosulfonyl, mono- or di-(C_1-C_6alkylamino)carbonyl, and 4- to 7-membered heterocycle; or

(ii) a heteroaryl chosen from:



each of which is substituted with from 0 to 2 substituents independently chosen from amino, halogen, hydroxy, cyano, aminocarbonyl, aminosulfonyl, COOH, C_1-C_6alkyl, C_1-C_6hydroxyalkyl, C_1-C_6alkoxy, C_2-C_6alkyl ether, C_1-C_6alkanoylamino, mono- or di-(C_1-C_6alkyl)amino, C_1-C_6alkylsulfonyl, C_1-C_6alkylsulfonylamino, mono- or di-(C_1-C_6alkyl)aminosulfonyl, mono- or di-(C_1-C_6alkylamino)carbonyl, and 4- to 7-membered heterocycle.

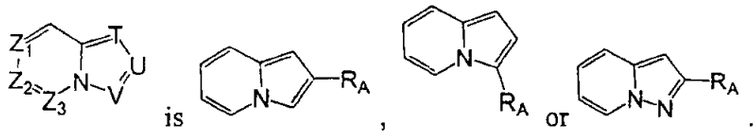
16. A compound or salt thereof according to any one of claims 1-15, wherein Z_1, Z_2 and Z_3 are each CR_2.

17. A compound or salt thereof according to any one of claims 1-15, wherein Z_1 is N and Z_2 and Z_3 are each CR_2.

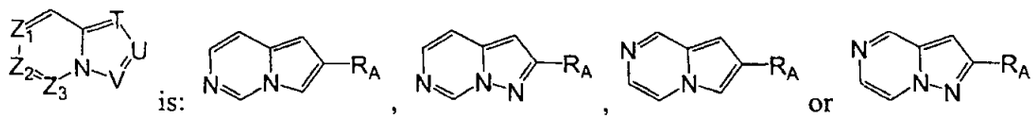
18. A compound or salt thereof according to any one of claims 1-15, wherein Z_2 is N and Z_1 and Z_3 are each CR_2.

19. A compound or salt thereof according to any one of claims 1-18, wherein each R_2 is hydrogen or C_1-C_6alkyl.

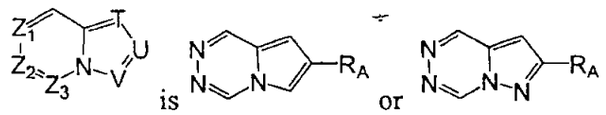
20. A compound or salt thereof according to any one of claims 1-15, wherein:



21. A compound or salt thereof according to any one of claims 1-15, wherein:



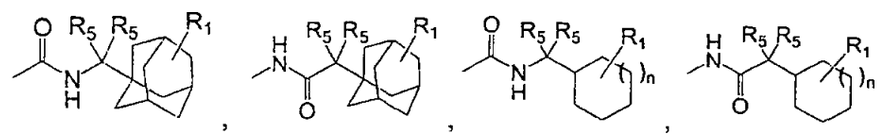
22. A compound or salt thereof according to any one of claims 1-15, wherein:

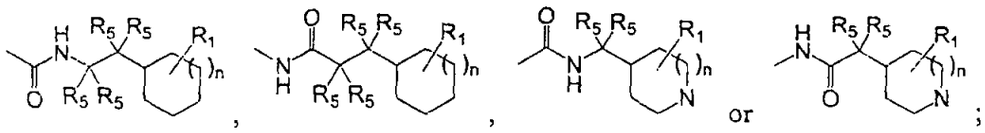


23. A compound or salt thereof according to any one of claims 1-22, wherein X is methylene or ethylene, each of which is substituted with from 0 to 4 substituents independently chosen from C_1-C_4alkyl, (C_3-C_8cycloalkyl)C_0-C_2alkyl, phenyl and substituents that are taken together to form a 3- to 7-membered cycloalkyl or heterocycloalkyl ring.

24. A compound or salt thereof according to any one of claims 1-23, wherein Y is cyclopropyl, cyclobutyl, cyclopentyl, cyclohexyl, cycloheptyl, piperidinyl, piperazinyl, morpholinyl, or adamantyl, each of which is substituted with from 0 to 4 substituents independently chosen from halogen, hydroxy, cyano, amino, C_1-C_6alkyl, C_2-C_6alkenyl, C_2-C_6alkynyl, C_1-C_6haloalkyl, C_1-C_6hydroxyalkyl, C_1-C_6alkoxy, and mono- or di-(C_1-C_6alkyl)amino.

25. A compound or salt thereof according to any one of claims 1-23, wherein –W-X-Y is:





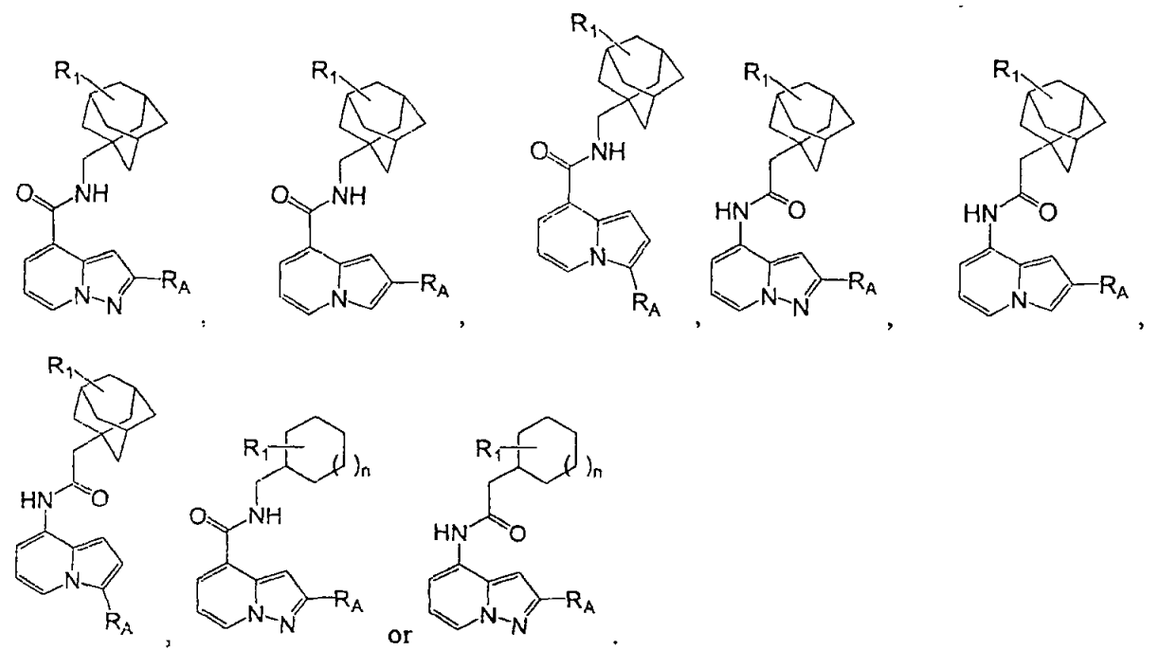
wherein:

n is 0, 1 or 2;

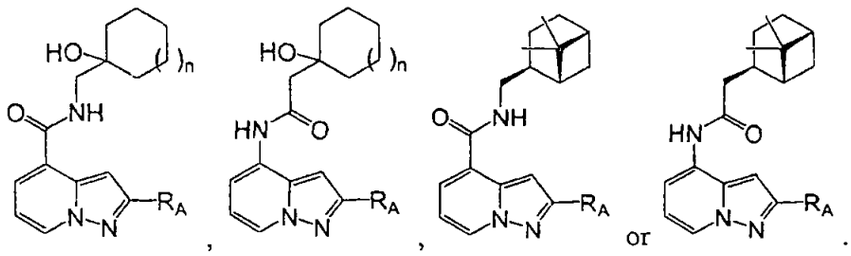
R_1 represents from 0 to 2 substituents independently chosen from halogen, hydroxy, cyano, amino, nitro, aminocarbonyl, aminosulfonyl, C_1-C_6alkyl, C_2-C_6alkenyl, C_2-C_6alkynyl, C_1-C_6haloalkyl, C_1-C_6hydroxyalkyl, C_1-C_6alkoxy, C_1-C_6haloalkoxy, (C_3-C_7cycloalkyl)C_0-C_4alkyl, and mono- or di-(C_1-C_6alkyl)amino; or two substituents represented by R_1 are taken together to form a C_1-C_3alkylene bridge or a fused or spiro 3- to 7-membered carbocyclic or heterocyclic ring; and

Each R_5 is independently hydrogen, C_1-C_6alkyl, C_3-C_7cycloalkyl or phenyl; or two R_5 are taken together to form a C_3-C_8cycloalkyl.

26. A compound or salt thereof according to claim 25, wherein the compound has the formula:

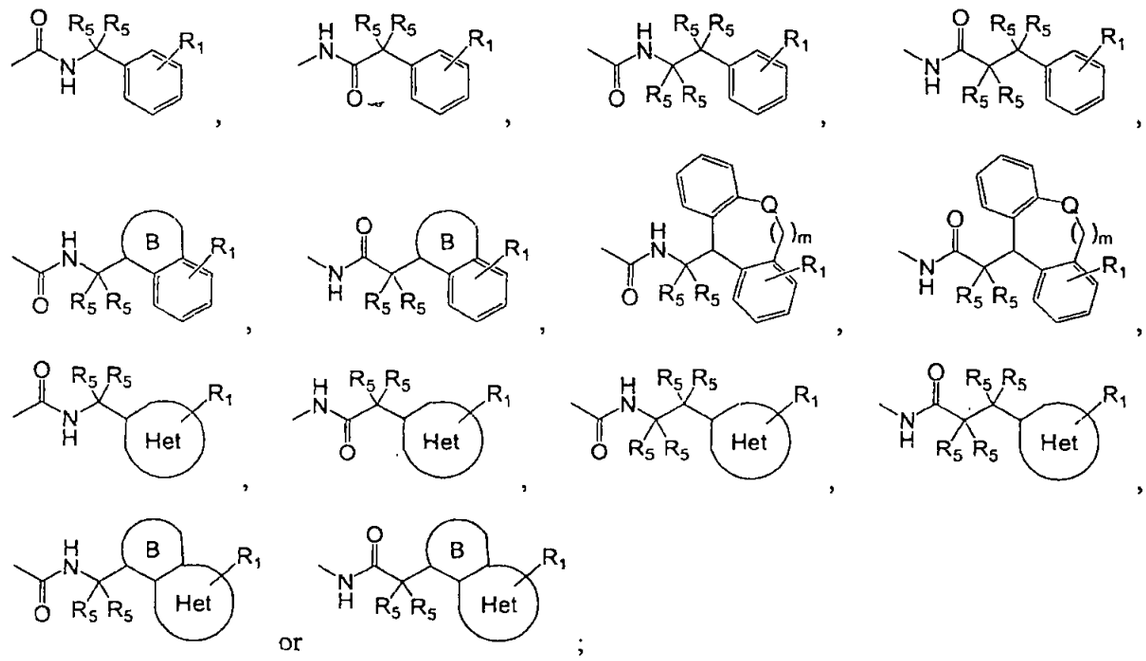


27. A compound or salt thereof according to claim 25, wherein the compound has the formula:



28. A compound or salt thereof according to any one of claims 1-23, wherein Y is phenyl or a 5- or 6-membered heteroaryl; each of which is optionally fused to a 5- to 7-membered carbocyclic or heterocyclic ring; each of which Y is substituted with from 0 to 4 substituents independently chosen from halogen, hydroxy, cyano, amino, C_1-C_6alkyl, C_2-C_6alkenyl, C_2-C_6alkynyl, C_1-C_6haloalkyl, C_1-C_6hydroxyalkyl, C_1-C_6alkoxy, and mono- or di-(C_1-C_6alkyl)amino.

29. A compound or salt thereof according to any one of claims 1-23, wherein –W-X-Y is:



wherein:

B is a 5- to 7-membered carbocyclic or heterocyclic ring;

Het is a 5- or 6-membered heteroaryl;

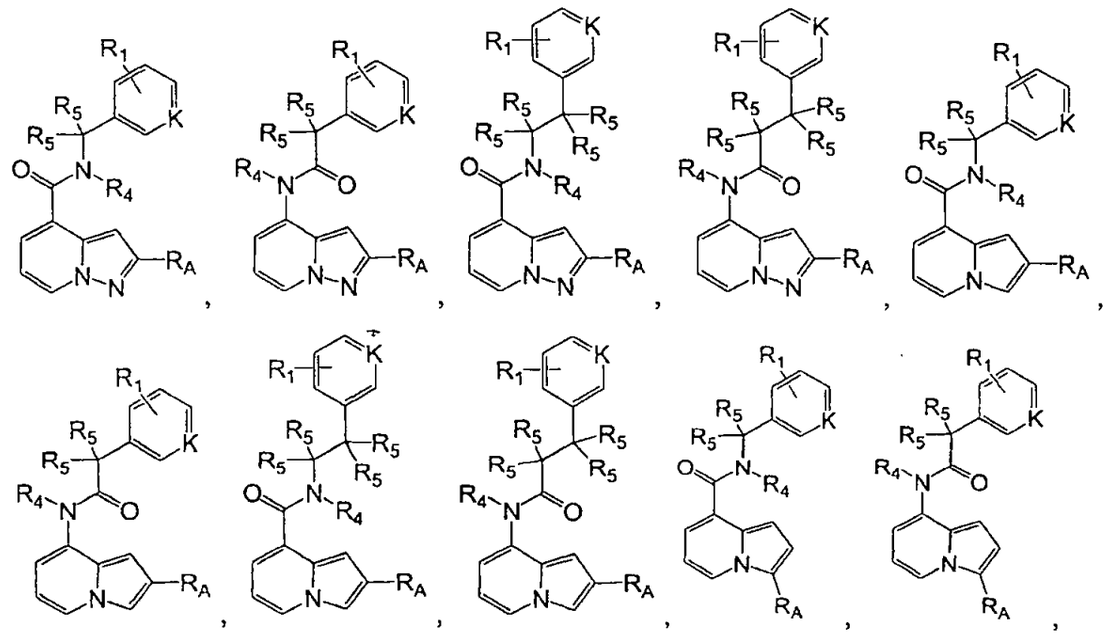
R_1 represents from 0 to 2 substituents independently chosen from halogen, hydroxy, cyano, amino, nitro, aminocarbonyl, aminosulfonyl, C_1-C_6alkyl, C_2-C_6alkenyl, C_2-C_6alkynyl, C_1-C_6haloalkyl, C_1-C_6hydroxyalkyl, C_1-C_6alkoxy, C_1-C_6haloalkoxy, (C_3-C_7cycloalkyl)C_0-C_4alkyl, and mono- or di-(C_1-C_6alkyl)amino; or two substituents represented by R_1 are taken together to form a fused or spiro 3- to 7-membered carbocyclic or heterocyclic ring;

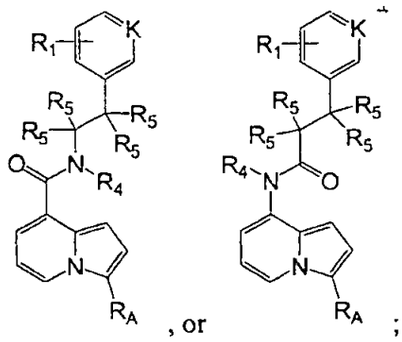
Each R_5 is independently hydrogen, C_1-C_6alkyl, C_3-C_7cycloalkyl or phenyl; or two R_5 are taken together to form a C_3-C_8cycloalkyl;

Q is CH_2, CO, O, NH, S, SO or SO_2; and

m is 0 or 1.

30. A compound or salt thereof according to claim 1, wherein the compound has the formula:





wherein K is CH or N,

R_1 represents from 0 to 2 substituents independently chosen from halogen, hydroxy, cyano, amino, nitro, aminocarbonyl, aminosulfonyl, C_1-C_6alkyl, C_2-C_6alkenyl, C_2-C_6alkynyl, C_1-C_6haloalkyl, C_1-C_6hydroxyalkyl, C_1-C_6alkoxy, C_1-C_6haloalkoxy, (C_3-C_7cycloalkyl)C_0-C_4alkyl, and mono- or di-(C_1-C_6alkyl)amino; or two substituents represented by R_1 are taken together to form a fused or spiro 3- to 7-membered carbocyclic or heterocyclic ring;

R_4 is hydrogen, C_1-C_6alkyl, (C_3-C_8cycloalkyl)C_0-C_2alkyl or taken together with any R_5 to form a 4- to 6-membered heterocycloalkyl;

Each R_5 is independently hydrogen, C_1-C_6alkyl, C_3-C_7cycloalkyl or phenyl; or is joined with R_4 to form a 4- to 6-membered heterocycloalkyl; or two R_5 are taken together to form a C_3-C_8cycloalkyl;

and R_A is a group of the formula -L-A-M, wherein:

L is absent or C_1-C_6alkylene that is optionally modified by the replacement of a carbon-carbon single bond with a double or triple carbon-carbon bond, which alkylene is optionally substituted with oxo, –COOH, $–SO_3H$, $–SO_2NH_2$, $–PO_3H_2$, tetrazole or oxadizaolone;

A is absent or CO, O, NR_6, S, SO, SO_2, $CONR_6$, NR_6CO, (C_4-C_7cycloalkyl)C_0-C_4alkylene or (4- to 7-membered heterocycloalkyl)C_0-C_4alkylene; wherein R_6 is hydrogen or C_1-C_6alkyl; and

M is:

(i) hydroxy, cyano, amino, aminocarbonyl, aminosulfonyl or COOH; or

(ii) C_1-C_6haloalkyl, C_1-C_6alkoxy, 5- to 10-membered carbocycle, 4- to 10-membered heterocycle, C_1-C_6alkanoyloxy, C_1-C_6alkanoylamino, C_1-C_6alkylsulfonyl, C_1-C_6alkylsulfonylamino, C_1-C_6alkylsulfonyloxy, mono- or di-C_1-C_6alkylamino, mono- or di-(C_1-

C_6alkyl)aminosulfonyl, or mono- or di-(C_1-C_6alkyl)aminocarbonyl; each of which is optionally substituted and each of which is preferably substituted with from 0 to 4 substituents independently chosen from oxo, amino, halogen, hydroxy, cyano, aminocarbonyl, aminosulfonyl, COOH, C_1-C_6alkyl, C_1-C_6hydroxyalkyl, C_1-C_6haloalkyl, C_1-C_6alkoxy, C_1-C_6haloalkoxy, C_2-C_6alkyl ether, C_1-C_6alkanoylamino, mono- or di-(C_1-C_6alkyl)amino, C_1-C_6alkylsulfonyl, C_1-C_6alkylsulfonylamino, mono- or di-(C_1-C_6alkyl)aminosulfonyl, mono- or di-(C_1-C_6alkylamino)carbonyl, and 4- to 7-membered heterocycle.

31. A compound or salt thereof according to claim 1, wherein the compound is:

4-[(adamantan-1-ylmethyl)carbamoyl]pyrazolo[1,5-*a*]pyridine-2-carboxylic acid ethyl ester;

N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-{[(3R)-3-aminopyrrolidin-1-yl]carbonyl}pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide;

N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-(hydroxymethyl)pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide;

N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-{[(3R)-3-aminopyrrolidin-1-yl]methyl}pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide;

N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-(cyanomethyl)pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide;

{4-[(adamantan-1-ylmethyl)carbamoyl]pyrazolo[1,5-*a*]pyridin-2-yl}acetic acid;

N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-{2-[(3R)-3-aminopiperidin-1-yl]-2-oxoethyl}pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide;

{4-[(adamantan-1-ylmethyl)carbamoyl]pyrazolo[1,5-*a*]pyridin-2-ylmethoxy}acetic acid ethyl ester;

{4-[(adamantan-1-ylmethyl)carbamoyl]pyrazolo[1,5-*a*]pyridin-2-ylmethoxy}acetic acid;

4-(2-adamantan-1-ylacetylamino)pyrazolo[1,5-*a*]pyridine-2-carboxylic acid ethyl ester;

2-(2-cyano-vinyl)-pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxylic acid (adamantan-1-ylmethyl)-amide;

N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-(2-cyanoethyl)pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide;

2-[2-(1H-tetrazol-5yl)-ethyl]-pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxylic acid (adamantan-1-ylmethyl)-amide;

N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-{[(3R)-3-(isopropylamino)pyrrolidin-1-yl]carbonyl}pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide;

N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-{[(3R)-3-aminopiperidin-1-yl]carbonyl}pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide;

4-N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-N-(2-methoxyethyl)-2-N-methylpyrazolo[1,5-a]pyridine-2,4-dicarboxamide;

4-N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-N-methyl-2-N-pyridin-2-ylpyrazolo[1,5-a]pyridine-2,4-dicarboxamide;

N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-(5,6-dihydroimidazo[1,5-a]pyrazin-7(8H)-ylcarbonyl)pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide;

4-N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-N-methyl-2-N-(pyridin-3-ylmethyl)pyrazolo[1,5-a]pyridine-2,4-dicarboxamide;

N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-(morpholin-4-ylcarbonyl)pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide;

ethyl N-({4-[(adamantan-1-ylmethyl)carbamoyl]pyrazolo[1,5-a]pyridin-2-yl}carbonyl)-N-methylglycinate;

N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-(5,6-dihydro[1,2,4]triazolo[4,3-a]pyrazin-7(8H)-ylcarbonyl)pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide;

N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-(2-morpholin-4-yl-2-oxoethyl)pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide;

4-N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-N-methyl-2-N-[(1-methyl-1H-imidazol-5-yl)methyl]pyrazolo[1,5-a]pyridine-2,4-dicarboxamide;

N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-{[(3R)-3-(dimethylamino)pyrrolidin-1-yl]carbonyl}pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide;

4-N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-N-methyl-2-N-(tetrahydrofuran-3-yl)pyrazolo[1,5-a]pyridine-2,4-dicarboxamide;

ethyl N-({4-[(adamantan-1-ylmethyl)carbamoyl]pyrazolo[1,5-a]pyridin-2-yl}methyl)-N-methylglycinate;

N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-[(2-methyl-4-oxo-3,5,7,8-tetrahydropyrido[4,3-d]pyrimidin-6(4H)-yl)carbonyl]pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide;

N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-{[(3R)-3-(diethylamino)pyrrolidin-1-yl]carbonyl}pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide;

N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-[(3-oxopiperazin-1-yl)carbonyl]pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide;

4-N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-N-methyl-2-N-(pyridin-4-ylmethyl)pyrazolo[1,5-a]pyridine-2,4-dicarboxamide;

N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-[(1-methyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-pyrazolo[4,3-c]pyridin-5-yl)carbonyl]pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide;

4-N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-N-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)pyrazolo[1,5-a]pyridine-2,4-dicarboxamide;

N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-[(2-oxo-1-oxa-3,8-diazaspiro[4.5]dec-8-yl)carbonyl]pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide;

4-N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-N-methyl-2-N-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)pyrazolo[1,5-a]pyridine-2,4-dicarboxamide;

4-N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-N-(3-methoxypropyl)pyrazolo[1,5-a]pyridine-2,4-dicarboxamide;

4-N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-N-methyl-2-N-pyridin-4-ylpyrazolo[1,5-a]pyridine-2,4-dicarboxamide;

N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-[(3-oxo-2,8-diazaspiro[4.5]dec-8-yl)carbonyl]pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide;

ethyl N-({4-[(adamantan-1-ylmethyl)carbamoyl]pyrazolo[1,5-a]pyridin-2-yl}carbonyl)glycinate;

4-N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-N-(2-methoxyethyl)pyrazolo[1,5-a]pyridine-2,4-dicarboxamide;

2-{[(3R)-3-aminopiperidin-1-yl]carbonyl}-N-(4-methyl-2-phenylpentyl)pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide;

N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-[2-(1H-tetrazol-5-yl)ethyl]pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide;

tert-butyl [1-({4-[(4-methyl-2-phenylpentyl)carbamoyl]pyrazolo[1,5-a]pyridin-2-yl}carbonyl)pyrrolidin-3-yl]carbamate;

2-{[(3R)-3-aminopyrrolidin-1-yl]carbonyl}-N-(4-methyl-2-phenylpentyl)pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide;

N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-{[(3R)-3-(methylamino)pyrrolidin-1-yl]carbonyl}pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide;

N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-{[(3R)-3-(ethylamino)pyrrolidin-1-yl]carbonyl}pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide;

4-N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-N-methyl-2-N-(pyrazin-2-ylmethyl)pyrazolo[1,5-a]pyridine-2,4-dicarboxamide;

4-N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-N-methyl-2-N-[(1-methyl-1H-pyrazol-4-yl)methyl]pyrazolo[1,5-a]pyridine-2,4-dicarboxamide;

4-N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-N-methyl-2-N-(pyridin-2-ylmethyl)pyrazolo[1,5-a]pyridine-2,4-dicarboxamide;

4-N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-N-(pyridin-2-ylmethyl)pyrazolo[1,5-a]pyridine-2,4-dicarboxamide;

N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-(5,6-dihydroimidazo[1,5-a]pyrazin-7(8H)-ylmethyl)pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide;

N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-{[methyl(pyridin-2-ylmethyl)amino]methyl}pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide;

N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-{[methyl(pyridin-3-ylmethyl)amino]methyl}pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide;

N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-{[methyl(pyrazin-2-ylmethyl)amino]methyl}pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide;

2-{[(3R)-3-aminopyrrolidin-1-yl]carbonyl}-N-(4-methyl-2-pyridin-3-ylpentyl)pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide;

2-{[(3R)-3-aminopyrrolidin-1-yl]carbonyl}-N-[(1-pyridin-3-ylcyclohexyl)methyl]pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide;

2-{[(3R)-3-aminopyrrolidin-1-yl]carbonyl}-N-(2-cyclohexyl-4-methylpentyl)pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide;

N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-{2-[(2-fluoroethyl)amino]-2-oxoethyl}pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide;

N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-{2-[(2,2-difluoroethyl)amino]-2-oxoethyl}pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide;

N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-{2-oxo-2-[(2,2,2-trifluoroethyl)amino]ethyl}pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide;

4-N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-N-(2-fluoroethyl)pyrazolo[1,5-a]pyridine-2,4-dicarboxamide;

4-N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-N-(2,2-difluoroethyl)pyrazolo[1,5-a]pyridine-2,4-dicarboxamide;

4-N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-N-(2,2,2-trifluoroethyl)pyrazolo[1,5-a]pyridine-2,4-dicarboxamide;

4-N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-N-(2-fluorobenzyl)-2-N-methylpyrazolo[1,5-a]pyridine-2,4-dicarboxamide;

4-N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-N-(3-fluorobenzyl)-2-N-methylpyrazolo[1,5-a]pyridine-2,4-dicarboxamide;

4-N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-N-(4-fluorobenzyl)-2-N-methylpyrazolo[1,5-a]pyridine-2,4-dicarboxamide;

N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-{[(2-fluorobenzyl)(methyl)amino]methyl}pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide;

N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-{[(3-fluorobenzyl)(methyl)amino]methyl}pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide;

N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-{[(4-fluorobenzyl)(methyl)amino]methyl}pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide;

2-{[(3R)-3-aminopyrrolidin-1-yl]carbonyl}-N-[2-(4-chlorophenyl)-4-methylpentyl]pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide;

2-{[(3R)-3-aminopyrrolidin-1-yl]carbonyl}-N-(3-cyclohexyl-2-phenylpropyl)pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide;

2-{[(3R)-3-aminopyrrolidin-1-yl]carbonyl}-N-[4-methyl-2-(4-methylphenyl)pentyl]pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide;

4-N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-N-(2-fluoroethyl)-2-N-methylpyrazolo[1,5-a]pyridine-2,4-dicarboxamide;

4-N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-N-(2,2-difluoroethyl)-2-N-methylpyrazolo[1,5-a]pyridine-2,4-dicarboxamide;

4-N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-N-methyl-2-N-(2,2,2-trifluoroethyl)pyrazolo[1,5-a]pyridine-2,4-dicarboxamide;

N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-{2-[(2-fluoroethyl)(methyl)amino]-2-oxoethyl}pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide;

N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-{2-[(2,2-difluoroethyl)(methyl)amino]-2-oxoethyl}pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide;

N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-{2-[methyl(2,2,2-trifluoroethyl)amino]-2-oxoethyl}pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide;

2-{[(3R)-3-aminopyrrolidin-1-yl]carbonyl}-N-{4-methyl-2-[4-(trifluoromethyl)phenyl]pentyl}pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide;

4-N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-N-methyl-2-N-[2-(methylsulfonyl)ethyl]pyrazolo[1,5-a]pyridine-2,4-dicarboxamide;

4-N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-N-(1,1-dioxidotetrahydrothiophen-3-yl)pyrazolo[1,5-a]pyridine-2,4-dicarboxamide;

N-{[1-(4-chlorophenyl)cyclohexyl]methyl}-2-(5,6-dihydroimidazo[1,5-a]pyrazin-7(8H)-ylcarbonyl)pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide;

N-{[1-(4-chlorophenyl)cyclohexyl]methyl}-2-(morpholin-4-ylcarbonyl)pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide;

4-N-{[1-(4-chlorophenyl)cyclohexyl]methyl}-2-N-(2-fluoroethyl)-2-N-methylpyrazolo[1,5-a]pyridine-2,4-dicarboxamide;

2-N-(2-fluoroethyl)-2-N-methyl-4-N-{4-methyl-2-[4-(trifluoromethyl)phenyl]pentyl}pyrazolo[1,5-a]pyridine-2,4-dicarboxamide;

N-{4-methyl-2-[4-(trifluoromethyl)phenyl]pentyl}-2-(morpholin-4-ylcarbonyl)pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide;

2-(5,6-dihydroimidazo[1,5-a]pyrazin-7(8H)-ylcarbonyl)-N-{4-methyl-2-[4-(trifluoromethyl)phenyl]pentyl}pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide;

N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-(4,5-dihydro-1H-imidazol-2-ylmethyl)pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide;

2-{[(3R)-3-aminopyrrolidin-1-yl]carbonyl}-N-{[1-(4-chlorophenyl)cyclohexyl]methyl}pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide;

N-[2-(4-chlorophenyl)-4-methylpentyl]-2-(morpholin-4-ylcarbonyl)pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide;

Pyrazolo[1,5-a]pyridine-2,4-dicarboxylic acid 4-{[2-(4-chloro-phenyl)-4-methyl-pentyl]-amide} 2-[(2-fluoro-ethyl)-methyl-amide];

Pyrazolo[1,5-a]pyridine-2,4-dicarboxylic acid 2-[(2-fluoro-ethyl)-methyl-amide]-4-{[1-(4-trifluoromethyl-phenyl)-cyclohexylmethyl]-amide};

2-(morpholin-4-ylcarbonyl)-N-({1-[4-(trifluoromethyl)phenyl]cyclohexyl}methyl)pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide;

N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-[2-(4,5-dihydro-1H-imidazol-2-yl)ethyl]pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide;

2-adamantan-1-yl-N-[2-(morpholin-4-ylcarbonyl)pyrazolo[1,5-a]pyridin-4-yl]acetamide;

2-adamantan-1-yl-N-[2-(5,6-dihydroimidazo[1,5-a]pyrazin-7(8H)-ylcarbonyl)pyrazolo[1,5-a]pyridin-4-yl]acetamide;

4-[(adamantan-1-ylacetyl)amino]-N-(2-fluoroethyl)-N-methylpyrazolo[1,5-a]pyridine-2-carboxamide;

2-adamantan-1-yl-N-(2-{[(3R)-3-aminopyrrolidin-1-yl]carbonyl}pyrazolo[1,5-a]pyridin-4-yl)acetamide;

rel-2-{[(2R,6S)-2,6-dimethylmorpholin-4-yl]carbonyl}-N-{4-methyl-2-[4-(trifluoromethyl)phenyl]pentyl}pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide;

2-[(2,2-dimethylmorpholin-4-yl)carbonyl]-N-{4-methyl-2-[4-(trifluoromethyl)phenyl]pentyl}pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide;

rel-2-{[(3R,5S)-3,5-dimethylmorpholin-4-yl]carbonyl}-N-{4-methyl-2-[4-(trifluoromethyl)phenyl]pentyl}pyrazolo[1,5-a]pyridine-4-carboxamide;

2-{4-[(adamantan-1-ylmethyl)carbamoyl]pyrazolo[1,5-a]pyridin-2-yl}-3-phenylpropanoic acid;

2-[4-({[1-(4-chlorophenyl)cyclohexyl]methyl}carbamoyl)pyrazolo[1,5-a]pyridin-2-yl]-3-phenylpropanoic acid;

3-{4-[(adamantan-1-ylmethyl)carbamoyl]pyrazolo[1,5-a]pyridin-2-yl}butanoic acid;

3-{4-[(adamantan-1-ylmethyl)carbamoyl]pyrazolo[1,5-a]pyridin-2-yl}-3-phenylpropanoic acid;

3-{4-[(adamantan-1-ylmethyl)carbamoyl]pyrazolo[1,5-a]pyridin-2-yl}-4-phenylbutanoic acid;

4-{8-[(adamantan-1-ylmethyl)carbamoyl]indolizin-2-yl}benzoic acid;

N-(adamantan-1-ylmethyl)-3-(4-cyanobenzoyl)indolizine-8-carboxamide;

N-(adamantan-1-ylmethyl)-3-(4-carbamoylbenzoyl)indolizine-8-carboxamide;

2-(4-cyanophenyl)-N-[(1-pyridin-3-ylcyclohexyl)methyl]indolizine-8-carboxamide;

N-(adamantan-1-ylmethyl)-3-(3-cyanobenzoyl)indolizine-8-carboxamide;

N-(adamantan-1-ylmethyl)-3-(3-carbamoylbenzoyl)indolizine-8-carboxamide; or

N-(adamantan-1-ylmethyl)-2-(4-carbamoylphenyl)indolizine-8-carboxamide.

32. A compound or salt thereof according to any one of claims 1-31, wherein the compound exhibits no detectable agonist activity an *in vitro* assay of $P2X_7$ receptor agonism.

33. A compound or salt thereof according to any one of claims 1-32, wherein, in an assay for $P2X_7$ receptor antagonism, the compound exhibits an IC_{50} value of 20 micromolar or less.

34. A pharmaceutical composition, comprising at least one compound or salt thereof according to any one of claims 1-33 in combination with a physiologically acceptable carrier or excipient.

35. A pharmaceutical composition according to claim 34, wherein the composition is formulated as an injectible fluid, an aerosol, a cream, an ointment, an oral liquid, a tablet, a troche, a lozenge a sprinkle, a powder, a dispersible powder, granules, a pill, a capsule, a gel, a paste, a foam, a lotion, an aqueous liquid, an emulsion, a syrup, a suppository or a transdermal patch.

36. A method for modulating the activity of a $P2X_7$ receptor *in vitro*, the method comprising contacting $P2X_7$ receptor with at least one compound or salt thereof according to any one of claims 1-33, under conditions and in an amount sufficient to detectably alter $P2X_7$ receptor activity.

37. A method for modulating the activity of a $P2X_7$ receptor in a patient, comprising contacting cells expressing $P2X_7$ receptor with at least one compound or salt thereof according to any one of claims 1-33, in an amount sufficient to detectably alter $P2X_7$ receptor activity *in vitro*, and thereby altering the activity of the $P2X_7$ receptor in the patient.

38. A method according to claim 37, wherein the patient is a human.

39. A method for treating a condition responsive to $P2X_7$ receptor modulation in a patient, comprising administering to the patient a therapeutically effective amount of at least one compound or salt thereof according to any one of claims 1-33, and thereby alleviating the condition in the patient.

40. A method according to claim 39, wherein the condition is pain.

41. A method according to claim 40, wherein the pain is neuropathic pain.

42. A method according to claim 40, wherein the pain is arthritis-associated pain, a neuropathic pain syndrome, visceral pain, dental pain, headache, stump pain, meralgia paresthetica, burning-mouth syndrome, pain associated with nerve and root damage, causalgia, neuritis, neuronitis, neuralgia, surgery-related pain, musculoskeletal pain, central nervous system pain, spinal pain, Charcot's pains, ear pain, muscle pain, eye pain, orofacial pain, carpel tunnel syndrome, acute and chronic back pain, gout, scar pain, hemorrhoidal pain, dyspeptic pains, angina, nerve root pain, complex regional pain syndrome, cancer-associated pain, pain associated with venom exposure, trauma-associated pain, pain associated with autoimmune diseases or immunodeficiency disorders, or pain that results from hot flashes, burns, sunburn, or exposure to heat, cold or external chemical stimuli.

43. A method according to claim 39, wherein the condition is inflammation, a neurological or neurodegenerative disorder, a cardiovascular disorder, an ocular disorder or an immune system disorder.

44. A method according to claim 39, wherein the condition is osteoarthritis, rheumatoid arthritis, arthrosclerosis, glaucoma, irritable bowel syndrome, inflammatory bowel disease, cirrhosis, lupus, scleroderma, Alzheimer's disease, traumatic brain injury, asthma, chronic obstructive pulmonary disease, or interstitial fibrosis.

45. A method for inhibiting death of retinal ganglion cells in a patient, comprising administering to the patient a therapeutically effective amount of at least one compound or salt thereof according to any one of claims 1-33, and thereby inhibiting death of retinal ganglion cells in the patient.

46. A method according to any one of claims 39-45, wherein the patient is a human.

47. A compound or salt thereof according to claim 1, wherein the compound is radiolabeled.

48. A method for determining the presence or absence of $P2X_7$ receptor in a sample, comprising the steps of:

(a) contacting a sample with a compound or salt thereof according to any one of claims 1-33, under conditions that permit modulation by the compound of $P2X_7$ receptor activity; and

(b) detecting a signal indicative of a level of the compound or salt thereof modulating $P2X_7$ receptor activity, and therefrom determining the presence or absence of $P2X_7$ receptor in the sample.

49. A packaged pharmaceutical preparation, comprising:

(a) a pharmaceutical composition according to claim 34 in a container; and

(b) instructions for using the composition to treat pain.

50. A packaged pharmaceutical preparation, comprising:

(a) a pharmaceutical composition according to claim 34 in a container; and

(b) instructions for using the composition to treat inflammation, a neurological or neurodegenerative disorder, a cardiovascular disorder, an ocular disorder or an immune system disorder.

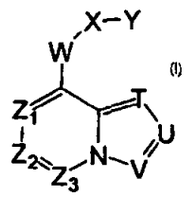
51. The use of a compound or salt thereof according to any one of claims 1-33 for the manufacture of a medicament for the treatment of a condition responsive to $P2X_7$ receptor modulation.

52. A use according to claim 51, wherein the condition is pain, neuropathic pain, inflammation, a neurological or neurodegenerative disorder, a cardiovascular disorder, an ocular disorder or an immune system disorder.

1 / 4 4

ANÁLOGOS DE AMIDAS HETEROARÍLICAS COMO ANTAGONISTAS DEL P2X$_7$

RESUMEN: Se proporcionan análogos de amidas



heteroarílicas, de fórmula (I), en donde las variables son como se describe en el presente documento. Tales compuestos son ligandos que pueden utilizarse para modular actividad específica de receptores *in vivo o in vitro,* y son particularmente útiles en el tratamiento de condiciones asociadas con activación patológica de receptores en humanos, animales domésticos y ganadería. Se proporcionan las composiciones farmacéuticas y los métodos para usar tales compuestos para el tratamiento de tales trastornos, así como los métodos para el uso de tales ligandos en estudios para localización de receptores.

1 de 5

ANÁLOGOS DE AMIDAS HETEROARÍLICAS

REFERENCIA CRUZADA A SOLICITUDES RELACIONADAS

Esta solicitud reivindica el beneficio de la Solicitud Provisional No. 60/910,864, presentada en Abril 10, 2007, en los Estados Unidos, la cual se incorpora a ésta como referencia para cualquier tema que esté en ella y que se omita en ésta.

CAMPO DE LA INVENCIÓN

Esta invención se refiere en general a análogos de amidas heteroarílicas que tienen propiedades farmacológicas ventajosas. La invención se refiere además al empleo de tales compuestos para el tratamiento de condiciones relacionadas con la activación del receptor $P2X_7$, para identificar otros agentes que se unen al receptor $P2X_7$, y como sondas para identificar y localizar receptores $P2X_7$.

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

La percepción del dolor o nocicepción, es mediada por terminales periféricas de un grupo de neuronas sensoriales especializadas, llamadas "nociceptores". Una amplia variedad de estímulos físicos y químicos induce la activación de tales neuronas en los mamíferos, conduciendo al reconocimiento de un estímulo potencialmente peligroso. No obstante, la activación inapropiada o excesiva de los nociceptores puede dar como resultado el debilitamiento del dolor agudo o crónico.

El dolor neuropático, que resulta característicamente del daño en el sistema nervioso, involucra la transmisión de señal de dolor en ausencia de estímulo, dolor por un estímulo

normalmente inocuo (alodinia) y dolor aumentado por un estímulo normalmente doloroso (hiperalgesia). Se cree que, en la mayoría de los casos, el dolor neuropático ocurre debido a la sensibilización de los sistemas nerviosos central y periférico que sigue a un daño inicial en el sistema nervioso periférico (e. g., vía daño directo o enfermedad sistémica). Característicamente, el dolor neuropático es quemante, punzante y tenaz en intensidad y puede, algunas veces, debilitar más que el daño o el proceso de enfermedad que lo indujeron inicialmente.

Los tratamientos existentes para el dolor neuropático son sub-óptimos en general. Los opiatos, tales como la morfina, son analgésicos potentes, pero su utilidad es limitada a causa de los efectos colaterales adversos, tales como la adicción física y propiedades de abstinencia, así como también depresión respiratoria, cambios de ánimo, y motilidad intestinal disminuida con constipación concomitante, náuseas, vómitos, y alteraciones en los sistemas endocrino y nervioso autónomo. Adicionalmente, con frecuencia el dolor neuropático no responde, o sólo responde parcialmente, a los regímenes convencionales de analgesia con opioides, o al tratamiento con otros fármacos, tales como gabapentin. Los tratamientos que emplean la cetamina, antagonista del N-metil-D-aspartato o la clonidina, agonista alfa(2)-adrenérgica, pueden reducir el dolor agudo o crónico, y permitir la reducción del consumo de opioides, pero a menudo estos agentes tienen baja tolerancia debido los efectos colaterales.

Otra condición común para la cual las terapias existentes son insuficientes es la inflamación. La inflamación transitoria es un mecanismo benéfico que protege a los mamíferos de los patógenos invasores. Sin embargo, la inflamación no controlada ocasiona daño en los tejidos y dolor y es la causa fundamental de muchas enfermedades, incluyendo asma, así como también otras enfermedades alérgicas, infecciosas, autoinmunes, degenerativas e idiopáticas. Los tratamientos existentes a menudo muestran eficacia baja, retardada o solamente temporal, efectos colaterales indeseables y/o falta de selectividad. Hay una continua necesidad de nuevos fármacos que superen una o más de las deficiencias de los fármacos que se usan corrientemente para inmunosupresión o en el tratamiento o prevención de trastornos inflamatorios, incluyendo trastornos alérgicos, trastornos autoinmunes, trastornos fibrogénicos, y enfermedades neurodegenerativas, tales como esclerosis múltiple, esclerosis lateral amiotrófica, enfermedad de Alzheimer, y enfermedad de Huntington.

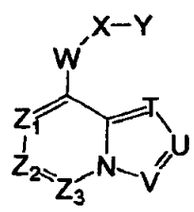
El receptor $P2X_7$ ("$P2X_7$") es un canal iónico controlado por ligando que es activado por el ATP y está presente en una variedad de tipos de células, incluyendo las microglias en el sistema nervioso central y en células involucradas en la inflamación y en funcionamiento del sistema inmune. En particular, el $P2X_7$ está involucrado en la activación de los macrófagos de linfocitos y monocitos conduciendo a la liberación aumentada de citoquinas pro-inflamatorias (e.g., TNF alfa e IL-1 beta) a partir de esas células. Estudios recientes indican que inhibiendo la activación del $P2X_7$ en situaciones de

inflamación (e.g., artritis reumatoide y otras enfermedades autoinmunes, osteoartritis, uveítis, asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica y enfermedad del intestino irritable) o fibrosis intersticial, tiene como resultado un efecto terapéutico. Estos y otros estudios indican que los antagonistas del $P2X_7$ pueden encontrar uso en el tratamiento y profilaxis del dolor, incluyendo dolor agudo, crónico y neuropático, así como también una variedad de otras condiciones incluyendo osteoartritis, artritis reumatoide, artroesclerosis, enfermedad inflamatoria del intestino, enfermedad de Alzheimer, daño cerebral por trauma, asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, y fibrosis de los órganos internos (e.g., fibrosis intersticial).

Para tales terapias son deseables antagonistas del $P2X_7$ de moléculas pequeñas. La presente invención satisface esta necesidad y proporciona ventajas relacionadas adicionales.

RESUMEN DE LA INVENCIÓN

La presente invención proporciona análogos de amidas de heteroarílicas de Fórmula I:



Fórmula I

Así como también las sales de tales compuestos aceptables farmacéuticamente.

Dentro de la Fórmula I:

T, U, y V se escogen independientemente entre CR_3, CR_A, y N; en ciertas modalidades, exactamente uno entre T, U, y V es CR_A;

W es $-C(=O)NR_4-$, $-NR_4C(=O)-$ o $-NR_4C-NR_4C(=O)-$;

X está ausente o es alquileno C_1-C_6 que es sustituido con de 4 a 6 sustituyentes elegidos independientemente entre: (i) alquilo C_1-C_4, (cicloalquilC_3-C_8)alquiloC_0-C_2 y fenilalquiloC_0-C_2; (ii) sustituyentes que se toman simultáneamente para formar un anillo cicloalquilo o heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros; y (iii) sustituyentes que se toman simultáneamente con R_4 para formar un heterocicloalquilo de 4 a 7 miembros; y es alquiloC_1-C_8, cicloalquiloC_3-C_{16}; heterocicloalquilo de 4 a 16 miembros, arilo de 6 a 16 miembros, o heteroarilo de 5 a 16 miembros, cada uno de los cuales es opcionalmente sustituido y cada uno de los cuales es preferentemente sustituido con de 0 a 6 sustituyentes elegidos independientemente entre hidroxi, halógeno, ciano, amino, nitro, oxo, aminocarbonilo, aminosulfonilo, COOH, alquilo C_1-C_6, alquenilo C_2-C_6, alquinilo C_2-C_6, haloalquilo C_1-C_6, hidroxialquilo C_1-C_6, aminoalquilo C_1-C_6, alcoxi C_1-C_6, haloalcoxi C_1-C_6, éter de alquilo C_2-C_6, alcanoilo C_1-C_6, alquilsulfonilo C_1-C_6, (cicloalquilC_3-C_7)alquiloC_0-C_4, mono- o di-(alquilC_1-C_6)amino, alcanoilamino C_1-C_6, mono- o di-(alquil C_1-C_6)aminocarbonilo, mono- o di-(alquilC_1-C_6)aminosulfonilo, y (alquilC_1-C_6)sulfonilamino;

Z_1 y Z_3 son independientemente N, CH o carbono sustituido (e.g., CR_2);

Z_2 es N, CH o carbono sustituido (e.g., CR_A o CR_2);

150

Cada R_2 y cada R_3 se selecciona independientemente entre hidrógeno, halógeno, ciano, amino, nitro, aminocarbonilo, aminosulfonilo, COOH, alquilo C_1-C_6, alquenilo C_2-C_6, alquinilo C_2-C_6, haloalquilo C_1-C_6, hidroxialquilo C_1-C_6, aminoalquilo C_1-C_6, alcoxi C_1-C_6, haloalcoxi C_1-C_6, alcanoilo C_1-C_6, éter de alquilo C_2-C_6, (cicloalquilC_3-C_7)alquilo C_0-C_4, mono- o di-(alquilC_1-C_6)amino, alquilsulfonilo C_1-C_6, alcanoilamino C_1-C_6, mono- o di-(alquil C_1-C_6)aminocarbonilo, mono- o di-(alquilC_1-C_6)aminosulfonilo, y (alquilC_1-C_6)sulfonilamino;

Cada R_4 es independientemente hidrógeno, alquilo C_1-C_6, (cicloalquilC_3-C_8)alquilo C_0-C_2 o se toman simultáneamente con un sustituyente X para formar un heterocicloalquilo de 4 a 7 miembros; y R_A es un grupo de la fórmula -L-A-M, en donde:

L está ausente o es alquileno C_1-C_6 que está opcionalmente modificado por el reemplazo de un enlace sencillo carbono-carbono con un enlace carbono-carbono doble o triple, el cual alquileno está opcionalmente sustituido con oxo o una parte ácida tal como *COOH*, $-SO_3H$, $-SO_2NH_2$, $-PO_3H_2$, tetrazol u oxadizaolona;

A está ausente o es CO, O, NR_6, S, SO, $CONR_6$, NR_6CO, (cicloalquilC_4-C_7)alquileno C_0-C_4; en donde R_6 es hidrógeno o alquilo C_1-C_6; y

M es:

(i) hidroxi, ciano, amino aminocarbonilo, aminosulfonilo, o COOH; O

(ii) haloalquilo C_1-C_6, alcoxi C_1-C_6, carbociclo de 5 a 10 miembros, heterociclo de 4 a 10 miembros,

alcanoiloxi C_1-C_6, alcanoilamino C_1-C_6, alquilsulfonilo C_1-C_6, alquilsulfonilamino C_1-C_6, alquilsulfoniloxi C_1-C_6, mono- o di-alquilamino C_1-C_6, mono- o di-(alquilC_1-C_6)aminosulfonilo, o mono- o di(alquilC_1-C_6)aminocarbonilo; cada uno de los cuales es opcionalmente sustituido con de 0 a 4 sustituyentes seleccionados independientemente entre oxo, amino, halógeno, hidroxi, ciano, aminocarbonilo, aminosulfonilo, COOH, alquilo C_1-C_6, hidroxialquilo C_1-C_6, haloalquilo C_1-C_6, alcoxi C_1-C_6, haloalcoxi C_1-C_6, éter de alquilo C_2-C_6, alcanoilamino C_1-C_6, mono- o di-(alquilC_1-C_6)amino alquilsulfonilo C_1-C_6, alquil C_1-C_6 sulfonilamino, mono- o di-(alquil C_1-C_6)aminosulfonilo o mono- o di-(alquil C_1-C_6) aminocarbonilo, y un heterociclo de 4 a 7 miembros.

Dentro de ciertos aspectos, Y es cicloalquilo C_3-C_{16}, heterocicloalquilo de 4 a 16 miembros, arilo de 6 a 16 miembros o heteroarilo de 5 a 16 miembros, cada uno los cuales es sustituido con de 0 a 6 sustituyentes seleccionados independientemente entre hidroxi, halógeno, ciano, amino, nitro, oxo, aminocarbonilo, aminosulfonilo, COOH, alquilo C_1-C_6, alquenilo C_2-C_6, alquinilo C_2-C_6, haloalquilo C_1-C_6, hidroxialquilo C_1-C_6, aminoalquilo C_1-C_6, alcoxi C_1-C_6, haloalcoxi C_1-C_6, éter de alquilo C_2-C_6, alcanoilo C_1-C_6, alquilsulfonilo C_1-C_6, (cicloalquilC_3-C_7)alquilo C_0-C_4, mono- o di-(alquilC_1-C_6)amino, alcanoilamino C_1-C_6, mono- o di-(alquil

C_1-C_6)aminocarbonilo, mono- o di-(alquilC_1-C_6)aminosulfonilo, y (alquilC_1-C_6)sulfonilamino;

Dentro de ciertos aspectos, los análogos de amidas heteroarílicas de Fórmula I son antagonistas del $P2X_7$, con un valor de IC_{50} no mayor que 20 micromolar, 10 micromolar, 5 micromolar, 1 micromolar, 500 nanomolar o 100 nanomolar en un ensayo *in vitro* para determinar la actividad antagonista del $P2X_7$. En ciertas modalidades, tales antagonistas del $P2X_7$, no muestran actividad agonista detectable en un ensayo *in vitro* para la actividad del $P2X_7$ (i. e., en un ensayo suministrado en el ejemplo 4, en el presente documento) a una concentración igual al IC_{50}, 10 veces el IC_{50}, o 100 veces el IC_{50} y/o a una concentración de 2500 nM.

Dentro de ciertos aspectos, los análogos de amidas heteroarílicas suministrados en el presente documento están etiquetadas con un marcador detectable (e. g., marcadas con radio o conjugadas con fluoresceína).

La presente invención proporciona además, dentro de otros aspectos, composiciones farmacéuticas que comprenden por lo menos un análogo de amida heteroarílica suministrada en el presente documento en combinación con un portador o excipiente fisiológicamente aceptable.

Dentro de aspectos adicionales, se proporcionan métodos para modular (e. g., reducir) la actividad o la activación celular del $P2X_7$, que comprenden contactar una célula (e.g., microglia, astrocito o macrófago periférico o monocito) que expresa un $P2X_7$ con por lo menos un modulador de $P2X_7$ según se describe en

el presente documento. Tal contacto puede ocurrir *in vivo* o *in vitro* y generalmente se lleva a cabo usando una concentración de modulador de $P2X_7$ que es suficiente para alterar de manera detectable la actividad del $P2X_7$ *in vitro* (como se determina empleando un ensayo suministrado en el ejemplo 4).

La presente invención proporciona además métodos para tratar una condición que responde a la modulación del $P2X_7$ en un paciente, que comprenden en administrar al paciente una cantidad terapéuticamente efectiva de por lo menos un antagonista de $P2X_7$ según se describe en el presente documento.

Dentro de otros aspectos, se proporcionan métodos para el tratamiento del dolor en un paciente, que comprenden la administración a un paciente que sufre de (o está en riesgo de sufrir de) dolor, de una cantidad terapéuticamente efectiva de por lo menos un antagonista de $P2X_7$ según se describe en el presente documento.

En otros aspectos, se proporcionan métodos para el tratamiento de inflamación en un paciente, que comprenden la administración a un paciente que sufre de (o está en riesgo de sufrir de) inflamación de una cantidad terapéuticamente efectiva de por lo menos un antagonista de $P2X_7$ según se describe en el presente documento.

Además se proporcionan métodos para tratamiento de osteoartritis, artritis reumatoide, artroesclerosis, enfermedad inflamatoria del intestino, enfermedad de Alzheimer, daño cerebral por trauma, asma, enfermedad pulmonar obstructiva

crónica, condiciones oculares (e.g., glaucoma), cirrosis, lupus, esclerodermia, o fibrosis de los órganos internos (e. g., fibrosis intersticial) en pacientes, lo cual comprende administrar a un paciente que sufre de (o está en riesgo de) una o más de las condiciones anteriores una cantidad terapéuticamente efectiva de por lo menos uno de los antagonistas del $P2X_7$ según se describe en el presente documento.

Aún dentro de otros aspectos adicionales, se proporcionan métodos para inhibir la muerte de células ganglionares de la retina en un paciente, que comprenden la administración al paciente de una cantidad terapéuticamente efectiva de por lo menos un antagonista de $P2X_7$ según se describe en el presente documento.

Adicionalmente se proporcionan métodos para la identificación de un agente que se fija al $P2X_7$, que comprenden: (a) el contacto del $P2X_7$ con un compuesto marcado que es un análogo de amida heteroarílica como se describe en el presente documento bajo condiciones que permiten fijar el compuesto al $P2X_7$, generado así un compuesto de fijación marcado; (b) detección de una señal que corresponde a la cantidad del compuesto de fijación marcado en ausencia de agente para ensayo; (c) contacto del compuesto de fijación marcado con un agente para ensayo; (d) detección de una señal que corresponde a la cantidad de compuesto de fijación marcado en presencia de agente para ensayo; y (e) detección de la disminución en la señal detectada en el paso (d), en comparación con la señal detectada en el paso (b).

En aspectos adicionales, la presente invención proporciona métodos para determinar la presencia o ausencia del $P2X_7$ en una muestra, que consisten en: (a) la contacto de una muestra con un compuesto según se describe en el presente documento bajo condiciones que permiten la modulación por el compuesto de la actividad del $P2X_7$; y (b) la detección de una señal que indica el nivel del compuesto que modula la actividad del $P2X_7$.

La presente invención también proporciona preparados farmacéuticos empacados, que comprenden: (a) una composición farmacéutica como se describe en el presente documento en un empaque; y (b) instrucciones para el uso de la composición para (i) tratar una o más condiciones que responden a la modulación del $P2X_7$, tales como dolor, osteoartritis, artritis reumatoide, artroesclerosis, enfermedad inflamatoria del intestino, enfermedad de Alzheimer, daño cerebral por trauma, asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, condiciones oculares (e.g., glaucoma), cirrosis, lupus, esclerodermia, o fibrosis de los órganos internos (e. g., fibrosis intersticial) o (ii) proporcionar neuroprotección a la retina (e.g., inhibición de la muerte de células ganglionales de la retina).

Aún en otro aspecto, la presente invención proporciona métodos para la preparación de compuestos divulgados en el presente documento, incluyendo los intermedios.

Estos y otros aspectos de la invención resultarán evidentes en referencia a la siguiente descripción detallada.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

Como se anotó anteriormente, la presente invención proporciona análogos de amidas heteroarílicas. Tales compuestos pueden emplearse *in vivo* o *in vitro*, para modular la actividad del $P2X_7$ en una variedad de contextos.

TERMINOLOGÍA

Los compuestos se describen generalmente en el presente documento usando nomenclatura estándar. Para compuestos que tienen centros asimétricos, se entenderá que (a menos que se especifique de otra manera) se abarcan todos los isómeros ópticos y sus mezclas. Adicionalmente, los compuestos con dobles enlaces carbono-carbono pueden estar presentes en las formas Z y E, siendo incluidas en la presente invención todas las formas isoméricas, a menos que se especifique de otra manera. Cuando un compuesto existe en varias formas tautoméricas, el compuesto que se menciona no está limitado a un tautómero específico, sino que más bien se pretende abarcar todas las formas tautoméricas. Ciertos compuestos se definen aquí empleando una fórmula general que incluye variables (e.g., R_1, A, X). A menos que se especifique de otra manera, cada variable dentro de tal fórmula se define independientemente de cualquier otra variable, y cualquier variable que se encuentra más de una vez en una fórmula se define independientemente cada vez que se encuentre.

La frase "análogo de amida heteroarílica", como se emplea en el presente documento, abarca todos los compuestos de Fórmula I, así como también compuestos de otras Fórmulas proporcionadas el presente documento (incluyendo cualesquiera

157

enantiómeros, racematos y estereoisómeros) y sus sales farmacéuticamente aceptables. En ciertas modalidades, las pirimidonas sustituidas proporcionadas en el presente documento se han aislado de manera que están sustancialmente libres de solvente orgánico residual (i.e., cualquier solvente de la preparación está presente en una cantidad que está en, o es inferior a, el límite establecido para ese solvente por el Consejo Internacional para Concertación de los Requisitos Técnicos para Registro de Fármacos para Uso Humano (ICH)).

Una "sal farmacéuticamente aceptable" de un compuesto mencionado en el presente documento es una sal de ácido o de base que es adecuada para usar en contacto con los tejidos de los seres humanos o de animales sin toxicidad o carcinogenicidad excesivas, y preferiblemente sin irritación, respuesta alérgica, u otro problema o complicación. Tales sales incluyen sales de ácidos minerales y orgánicos, sales con residuo básico tales como las aminas, así como también sales alcalinas, sales orgánicas con residuos ácidos tales como las de ácidos carboxílicos. Aniones específicos farmacéuticamente aceptables para emplear en la formación de sales incluyen, pero no están limitados a, acetato, 2-acetoxibenzoato, ascorbato, benzoato, bicarbonato, bromuro, edetato de calcio, carbonato, cloruro, citrato, diclorhidrato, difosfato, ditartrato, edetato, estolato (etilsuccinato), formiato, fumarato, gluceptato, gluconato, glutamato, glicolato, glicolilarsanilato, hexilresorcinato, hidrabamina, clorhidrato, bromhidrato, yodohidrato, hidroximaleato, hidroxinaftoato, yoduro, isetionato, lactato, lactobionato, malato, maleato,

mandelato, metilbromuro, metilnitrato, metilsulfato, mucato, napsilato, nitrato, pamoato, pantotenato, fenilacetato, fosfato, poligalacturonato, propionato, salicilato, estearato, subacetato, succinato, sulfamato, sulfanilato, sulfato, sulfonatos incluyendo besilato (bencenosulfonato), mansilato (canforsulfonato), edisilato (etano-1,2,-disulfonato), esilato (etanosulfonato, 2-hidroxietilsulfonato), mesilato (metanosulfonato), triflato (trifluorometansulfonato) y tosilato (p-toluensulfonato), tanato, tartrato, teoclato y trietiyoduro. De manera similar, los cationes farmacéuticamente aceptables para emplear en la formación de sales incluyen, pero no están limitados a, amonio, benzatina, cloroprocaina, colina, dietanolamina, etilendiamina, meglumina, procaina, y metales tales como aluminio, calcio, litio, magnesio, potasio, sodio y zinc. Aquellos con experiencia corriente en la técnica reconocerán sales farmacéuticamente aceptables adicionales para los compuestos proporcionados el presente documento. En general, una sal de ácido o de base, farmacéuticamente aceptable, puede sintetizarse por cualquier método químico convencional a partir de un compuesto de origen que contiene una parte ácida o básica. Brevemente, tales sales pueden prepararse por reacción de las formas libres de ácido o base de estos compuestos con una cantidad estequiométrica de la base o ácido adecuados en agua o en solvente orgánico, o en una mezcla de los dos; en general, se prefiere el empleo de medios no acuosos, tales como éter, acetato de etilo, etanol, metanol, isopropanol, o acetonitrilo.

Será aparente que los compuestos y sales proporcionados en el presente documento pueden, pero no necesitan, ser formulados como hidratos, y que tales hidratos están incluidos en las fórmulas, nombre y estructuras mencionados el presente documento. Adicionalmente, los varios solvatos no hidratados, complejos no covalentes, formas cristalinas y polimorfas de los compuestos proporcionados el presente documento están dentro del alcance de la presente invención. También se proporcionan en el presente documento profármacos de los compuestos de las Fórmulas mencionadas. Un "profármaco" es un compuesto que puede no satisfacer totalmente los requerimientos estructurales del compuesto proporcionado en el presente documento, pero que se modifica *in vivo*, después de administrarlo a un paciente, para producir un compuesto de una fórmula proporcionada el presente documento. Por ejemplo, un profármaco puede ser un derivado acilado de tal compuesto. Los profármacos incluyen compuestos en los cuales grupos hidroxi, amina o sulfidrilo están unidos a cualquier grupo que, cuando se los administra a un mamífero, se descompone para formar un grupo hidroxi, amino o sulfidrilo libre. Ejemplos de profármacos incluyen, pero no están limitados a, acetato, formiato, benzoato y derivados peptídicos de grupos funcionales alcohol y amina en un compuesto proporcionado en el presente documento. Generalmente los profármacos pueden prepararse por modificación de grupos funcionales presentes en los compuestos de tal manera que las modificaciones se descomponen *in vivo* para producir los compuestos relacionados.

160

Según se lo emplea en el presente documento, el término "alquilo" se refiere a hidrocarburo alifático saturado de cadena lineal o ramificada. Los grupos alquilo incluyen grupos que tienen de 1 a 8 átomos de carbono (alquilo C_1-C_8), de 1 a 6 átomos de carbono (alquilo C_1-C_6), y de 1 a 4 átomos de carbono (alquilo C_1-C_4), tales como metilo, etilo, propilo, isopropilo, n-butilo, sec-butilo, ter-butilo, pentilo, 2-pentilo, isopentilo, neopentilo, hexilo, 2-hexilo, 3-hexilo, y 3-metilpentilo. "alquilo C_0-C_n" se refiere a un enlace sencillo covalente (C_0) o a un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono; por ejemplo "alquilo C_0-C_4" se refiere a un enlace sencillo covalente o a un grupo alquilo C_1-C_4. En algunos casos, se indica específicamente un sustituyente de un grupo alquilo. Por ejemplo, "hidroxialquilo C_1-C_6" es un grupo alquilo C_1-C_6 sustituido con por lo menos un -OH; "aminoalquilo C_1-C_6" es un grupo alquilo C_1-C_6 sustituido con por lo menos un $-NH_2$; cianoalquilo C_1-C_6 es un grupo alquilo C_1-C_6 sustituido con por lo menos un -CN.

"Alquenilo" se refiere a grupos alqueno de cadena recta o ramificada, que contienen por lo menos un enlace doble carbono-carbono no saturado. Los grupos alquenilo incluyen grupos alquenilo C_2-C_8, alquenilo C_2-C_6 y alquenilo C_2-C_4, que tienen de 2 a 8, de 2 a 6, o de 2 a 4 átomos de carbono respectivamente, tales como etenilo, alilo, o isopropenilo. "cianoalquenilo C_2-C_6" es un grupo alquenilo C_2-C_6 sustituido con por lo menos un -CN.

"Alquinilo" se refiere a grupos alquino de cadena recta o ramificada, que tienen uno o más enlaces carbono-

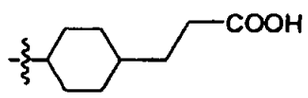
carbono no saturados, al menos uno de los cuales es un enlace triple. Los grupos alquinilo incluyen grupos alquinilo C_2-C_8, alquinilo C_2-C_6 y alquinilo C_2-C_4, que tienen de 2 a 8, de 2 a 6, o de 2 a 4 átomos de carbono respectivamente.

"Alquileno" se refiere a un grupo divalente, según se definió anteriormente. Alquileno C_1-C_2 es metileno o etileno; alquileno C_0-C_4 es un enlace sencillo covalente o un grupo alquileno que tiene 1, 2, o 3 átomos de carbono; alquileno C_0-C_2 es un enlace sencillo covalente, metileno o etileno. Un "alquileno C_1-C_6 que es modificado opcionalmente reemplazando un enlace sencillo carbono-carbono por un enlace carbono-carbono doble o triple" es un grupo alquileno C_1-C_6 según se describió anteriormente, o un alqueno C_2-C_6 o alquino C_2-C_6 divalentes.

Un grupo "cicloalquilo" es un grupo que contiene uno o más anillos saturados y/o parcialmente saturados en el cual todos los miembros del anillo son carbonos, tales como ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, ciclooctilo, adamantilo, mirtanilo y variantes parcialmente saturados de los anteriores, tal como ciclohexenilo. Los grupos cicloalquilo no contienen un anillo aromático o un anillo heterocíclico. Ciertos grupos cicloalquilo son cicloalquilo C_3-C_7, en los cuales el grupo cicloalquilo contiene un solo anillo que tiene de 3 a 7 miembros, todos los cuales son carbonos. Un "(cicloalquilo C_3-C_7)alquiloC_0-C_4" es un grupo cicloalquilo C_3-C_7 ligado vía un enlace sencillo covalente a un grupo alquileno C_1-C_4.

162

Un "(cicloalquilo C_4-C_7)alquileno C_0-C_4" es un grupo (cicloalquilo C_3-C_7)alquilo C_0-C_4 divalente que está ligado a dos partes específicas vía dos enlaces simples covalentes. En general, un enlace sencillo covalente está ubicado en la porción cíclica y el otro está ubicado en la porción de alquileno, si está presente; alternativamente, si no hay grupo alquileno, los dos enlaces simples covalentes están en diferentes miembros del anillo. Por ejemplo, con respecto al grupo R_A, si A es (cicloalquiloC_6)alquilenoC_2 y M es COOH, una parte R_A formada así es:



Como "alcoxi", según se emplea en el presente documento, se entiende un grupo alquilo según se describió anteriormente unido vía un puente de oxígeno. Los grupos alcoxi incluyen alcoxi C_1-C_6 y alcoxi C_1-C_4, que tienen de 1 a 6 o de 1 a 4 átomos de carbono, respectivamente. Metoxi, etoxi, propoxi, isopropoxi, n-butoxi, *sec*-butoxi, *ter*-butoxi, n-pentoxi, 2-pentoxi, 3-pentoxi, isopentoxi, neopentoxi, hexoxi, 2-hexoxi, 3-hexoxi, y 3-metilpentoxi son grupos alcoxi representativos.

El término "oxo" se emplea en el presente documento para referirse a un sustituyente oxígeno de un átomo de carbono que tiene como resultado la conversión de $-CH_2-$ a $-C(=O)-$. Un grupo oxo que es un sustituyente de un carbono aromático da como resultado la conversión de -CH- a $-C(=O)-$ y puede dar como resultado una pérdida de aromaticidad.

El término "alcanoilo" se refiere a un grupo acilo (e.g., -C(=O)-alquilo), en el cual los átomos de carbono están ordenados en forma lineal o ramificada y en donde la unión es por el carbono del grupo ceto. Los grupos alcanoilo tienen el número indicado de átomos de carbono, con el carbono del grupo ceto incluido en los átomos de carbono enumerados. Por ejemplo, un grupo alcanoilo C_2 es $-(C=O)CH_3$. Los grupos alcanoilo incluyen, por ejemplo, grupos alcanoilo C_2-C_8, grupos alcanoilo C_2-C_6, y grupos alcanoilo C_2-C_4, que tienen de 2 a 8, de 2 a 6, o de 2 a 4 átomos de carbono respectivamente. "AlcanoiloC_1" se refiere a $-(C=O)H$, el cual (conjuntamente con alcanoiloC_2-C_8) es abarcado por el término "alcanoiloC_1-C_8".

"Éter de alquilo" se refiere a un sustituyente éter lineal o ramificado (i.e., un grupo alquilo que es sustituido con un grupo alcoxi). Los grupos éter de alquilo incluyen grupos éter de alquilo C_2-C_8, éter de alquilo C_2-C_6, éter de alquilo C_2-C_4, que tienen de 2 a 8, 6, o 4 átomos de carbono respectivamente. Un sustituyente éter de alquilo C_2 es $-CH_2-O-CH_3-$.

El término "alcoxicarbonilo" se refiere a un grupo alcoxi unido por un puente ceto (-(C=O)-) (i.e., un grupo que tiene la estructura general -C(=O)-O-alquilo). Los grupos alcoxicarbonilo incluyen grupos alcoxicarbonilo C_1-C_8, C_1-C_6, y C_1-C_4, que tienen de 1 a 8, 6, o 4 átomos de carbono, respectivamente en la porción alquilo del grupo (i.e., el carbono del puente ceto no está incluido en el número indicado de átomos de carbono). "Alcoxicarbonilo C_1" se refiere a $-C(=O)-O-CH_3$; alcoxicarbonilo C_3 indica $-C(=O)-O-(CH_2)_2CH_3$ o $-C(=O)-O-CH(CH_3)_2$.

"Alcanoiloxi", como se emplea en el presente documento, se refiere a un grupo alcanoilo unido vía un puente de oxígeno (i.e., un grupo que tiene la estructura general -O-C(=O)-alquilo). Los grupos alcanoiloxi incluyen grupos alcanoiloxi C_1-C_8, C_1-C_6, y C_1-C_4, que tienen de 1 a 8, 6, o 4 átomos de carbono, respectivamente, en la porción alquilo del grupo. Por ejemplo, "alcanoiloxi C_1" se refiere a $-O-C(=O)-CH_3$.

Similarmente, "alcanoilamino" como se emplea en el presente documento, se refiere a un grupo alcanoilo unido vía un puente de nitrógeno (i.e., un grupo que tiene la estructura general -N(R)-C(=O)-alquilo), en cual R es hidrógeno o alquilo C_1-C_6. Los grupos alcanoilamino incluyen grupos alcanoilamino C_1-C_8, C_1-C_6, y C_1-C_4, que tienen de 1 a 8, 6, o 4 átomos de carbono dentro del grupo alcanoilo, respectivamente, en la porción alquilo del grupo.

"Alquilsulfonilo" se refiere a grupos de la fórmula -(SO_2)-alquilo, en los cuales el átomo de azufre es el punto de unión. Los grupos alquilsulfonilo incluyen grupos alquilsulfonilo C_1-C_6, y C_1-C_4, que tienen de 1 a 6, o de 1 a 4 átomos de carbono, respectivamente. Metilsulfonilo es un representativo del grupo alquilsulfonilo.

"Haloalquilsulfonilo C_1-C_4" es un grupo alquilsulfonilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono y está sustituido con por lo menos un halógeno (e.g., trifluorometilsulfonilo).

"Alquilsulfonilamino" se refiere a grupos de la fórmula -N(R)-(SO_2)-alquilo, en las cuales R es hidrógeno o alquilo C_1-C_6 y el átomo de nitrógeno es el punto de unión. Los grupos

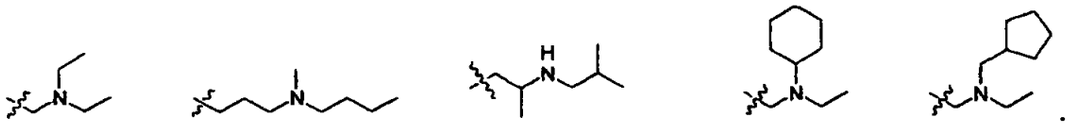
alquilsulfonilamino incluyen grupos alquilsulfonilamino C_1-C_6, y grupos alquilsulfonilamino C_1-C_4, que tienen de 1 a 6, o de 1 a 4 átomos de carbono, respectivamente. El metilsulfonilamino es un representante del grupo alquilsulfonilamino.

"Haloalquilsulfonilamino C_1-C_6" es un grupo alquilsulfonilamino que tiene de 1 a 6 átomos de carbono y está sustituido con por lo menos un halógeno (e.g., trifluorometilsulfonilamino).

"Aminosulfonilo" se refiere a grupos de la fórmula $-(SO_2)-NH_2$, en los cuales el átomo de azufre es el punto de unión. El término "mono- o di-(alquilo C_1-C_6)aminosulfonilo" se refiere a grupos que satisfacen la fórmula $-(SO_2)-NR_2$ en la cual el átomo de azufre es el punto de unión, y en la cual una R es alquilo C_1-C_6 y la otra R es hidrógeno o un alquilo C_1-C_6 elegido independientemente.

"Alquilaminoalquilo" se refiere a un grupo alquilamino enlazado vía un grupo alquileno (i.e., un grupo que tiene la estructura general -alquileno-NH-alquilo o -alquileno-N(alquil)(alquil)) en el cual cada alquilo se selecciona independientemente entre grupos alquilo, cicloalquilo y (cicloalquil)alquilo. Los grupos alquilaminoalquilo incluyen, por ejemplo, mono- y di-(alquilC_1-C_8)aminoalquilo C_1-C_8, mono- y di-(alquilC_1-C_6)aminoalquilo C_1-C_6, y , mono- y di-(alquilC_1-C_6)aminoalquilo C_1-C_4. "mono- o di-(alquilC_1-C_6)aminoalquilo C_0-C_6" se refiere al grupo , mono- y di(alquilC_1-C_6)amino enlazado vía un enlace sencillo covalente a un grupo alquileno C_1-C_6. Los siguientes son grupos aminoalquilo representativos:

166



Será aparente que la definición de "alquilo" como se emplea en los términos "alquilamino" y "alquilaminoalquilo" difiere de la definición de "alquilo" empleada para todos los otros grupos que contienen alquilo, en la inclusión de los grupos cicloalquilo y (cicloalquil)alquilo (e.g., (cicloalquilC_3-C_7)alquiloC_0-C_6).

El término "aminocarbonilo" se refiere a un grupo amida (i.e., -(C=O)NH_2).

"Mono- o di-(alquilC_1-C_6)aminocarbonilo" se refiere a grupos de la fórmula -(C=O)-N(R)$_2$ en los cuales el carbonilo es el punto de unión, una R es alquilo C_1-C_6 y la otra R es hidrógeno o un alquilo C_1-C_6 elegido independientemente.

"Mono- o di-(alquilC_1-C_6)aminocarbonilalquilo C_0-C_4" es un grupo aminocarbonilo en el cual uno o ambos átomos de hidrógeno se reemplaza con alquilo C_1-C_6, y que está enlazado vía un enlace covalente sencillo (i.e., mono- o di-(alquilC_1-C_6)aminocarbonilo) o un grupo alquileno C_1-C_4 (i.e., -(alquilC_0-C_4)-(C=O)N(alquilC_1-C_6)$_2$). Si se han reemplazado los dos átomos de hidrógeno, los grupos alquilo C_1-C_6 pueden ser iguales o diferentes.

El término "aminosulfonilo" se refiere a un grupo sulfonamida (i.e., -(SO_2)NH_2).

"Mono- o di-(alquilC_1-C_8)aminosulfonilo" se refiere a grupos de la fórmula $-(SO_2)-N(R)_2$, en los cuales el átomo de azufre es el punto de unión, una R es alquilo C_1-C_8 y la otra R es hidrógeno o un alquilo C_1-C_6 elegido independientemente.

"Mono- o di-(alquilC_1-C_6)aminosulfonilalquilo C_0-C_4" es un grupo aminosulfonilo en el cual uno o los dos átomos de hidrógeno se reemplaza con alquilo C_1-C_6, y que está enlazado vía un enlace covalente sencillo (i.e., mono- o di-(alquilC_1-C_6)aminosulfonilo) o un grupo alquileno C_1-C_4 (i.e., -(alquilo C_1-C_4)-$(SO_2)N$(alquilo C_1-$C_6)_2$). Si los dos átomos de hidrógeno son así reemplazados, los grupos alquilo C_1-C_6 pueden ser iguales o diferentes.

El término "halógeno" se refiere a flúor, cloro, bromo o yodo.

Un "haloalquilo" es un grupo alquilo que se sustituye con uno o más halógenos elegidos independientemente (e.g., los grupos "haloalquilo C_1-C_6" tienen de 1 a 6 átomos de carbono). Ejemplos de grupos haloalquilo incluyen, pero no están limitados a, mono-, di-, o tri-fluorometil; mono-, di-, o tri-clorometil, mono-, di-, o tri-, tetra- o penta-fluoroetil; mono-, di-, o tri-, tetra o penta-cloroetil; y 1,2,2,2-tetrafluoro-1-trifluorometil-etil. Grupos haloalquilo típicos son trifluorometil y difluorometil. El término "haloalcoxi" se refiere a un grupo haloalquilo según se definió anteriormente que está enlazado vía un puente de oxígeno.

Una línea ("-") que no está entre dos letras o símbolos se emplea para indicar un punto de unión para un sustituyente. Por ejemplo, $-CONH_2$ por el átomo de carbono.

Un "carbociclo" o "grupo carbocíclico" comprende por lo menos un anillo formado enteramente por enlaces carbono-carbono (al cual se hace referencia en el presente documento como anillo carbocíclico), y no contiene un heterociclo. A menos que se especifique de otra manera, cada anillo dentro de un carbociclo puede ser independientemente saturado, parcialmente saturado o aromático, y es opcionalmente sustituido según se indicó. Un carbociclo tiene generalmente de 1 a 3 anillos fusionados, colgantes o espiro y opcionalmente contiene además uno o más puentes alquileno; los carbociclos dentro de ciertas modalidades tienen un anillo o dos anillos fusionados. Característicamente, cada anillo contiene de 3 a 8 miembros (i.e., C_3-C_8); anillos de C_5-C_7 se citan en ciertas modalidades. Los carbociclos que contienen anillos fusionados, colgantes o espiro característicamente contienen de 9 a 16 miembros en los anillos. Ciertos carbociclos representativos son cicloalquilos según se describió anteriormente (e.g., ciclohexilo, cicloheptilo o adamantan). Otros carbociclos son arilo (i.e., contiene por lo menos un anillo carbocíclico aromático, con o sin uno o más anillos aromáticos y/o cicloalquílicos adicionales). Tales carbociclos arílicos incluyen, por ejemplo, fenilo, naftilo (e.g., 1.naftilo, y 2-naftilo), fluoroenilo, indanilo y 1,2,3,4-tetrahidronaftilo.

Ciertos carbociclos citados en el presente documento son grupos arilC_6-C_{10}alquilo C_0-C_8 (i.e., grupos en los cuales un

grupo carbocíclico de 6 a 10 miembros que comprende por lo menos un anillo aromático está enlazado vía un enlace covalente sencillo o un grupo alquileno C_1-C_8). Los grupos fenilo enlazados vía un enlace covalente sencillo o un grupo alquileno C_1-C_2 se denominan fenilalquilo C_0-C_2 (e.g., bencilo, 1-fenil-etilo, y 2-fenil-etilo).

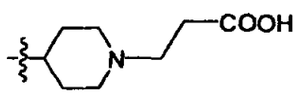
Un "heterociclo" o "grupo heterocíclico" tiene de 1 a 3 anillos fusionados, colgantes o espiro, por lo menos uno de los cuales es un anillo heterocíclico (i.e., uno o más átomos del anillo es un heteroátomo elegido independientemente entre O, S y N, siendo de carbono los restantes átomos del anillo). Los anillos adicionales, si los hay, pueden ser heterocíclicos o carbocíclicos. Característicamente, un anillo heterocíclico comprende 1, 2, 3 o 4 heteroátomos; en ciertas modalidades cada anillo heterocíclico tiene 1 o 2 heteroátomos por anillo. Cada anillo heterocíclico contiene, por lo general de 3 a 8 miembros anillados (en ciertas modalidades se citan anillos que tienen de 4 o 5 a 7 miembros anillados) y los heterociclos que comprenden anillos fusionados, colgantes o espiro característicamente contienen de 9 a 14 miembros anillados. Ciertos heterociclos contienen un átomo de azufre como miembro del anillo; en ciertas modalidades, el átomo de azufre se oxida a SO o SO_2. A menos que se especifique de otra manera, un heterociclo puede ser un grupo heterocicloalquilo (i.e., cada anillo es saturado o parcialmente saturado), tal como un heterocicloalquilo de 4 a 7 miembros, que generalmente comprende 1, 2, 3 o 4 átomos en el anillo que se eligen independientemente entre C, O, N y S; o un grupo heteroarilo

170

(i.e., por lo menos un anillo dentro del grupo es aromático), tal como un heteroarilo de 5 a 10 miembros (que puede ser monocíclico o bicíclico) o un heteroarilo de 6 miembros (e.g., piridilo o pirimidilo). Los grupos heterocíclicos con el enlace en N están enlazados vía el átomo de nitrógeno de un componente.

Un "heterocicloalquil C_0-C_4" es un grupo heterocíclico enlazado vía un enlace covalente sencillo o un grupo alquilenoC_1-C_4. Un "(heterocicloalquil de 4 a 7 miembros)alquilo C_1-C_4" es un anillo de heterocicloalquilo con de 4 a 7 miembros que está enlazado vía un grupo alquileno C_1-C_4.

Un "(heterocicloalquil de 4 a 7 miembros)alquileno C_0-C_4" es un grupo (heterocicloalquilo con de 4 a 7 miembros)alquilo C_0-C_4 divalente que está enlazado vía dos enlaces covalentes sencillos a dos partes específicas. En general, uno de tales enlaces covalentes sencillos está ubicado en la porción cíclica y el otro está ubicado en la porción alquileno, si la hay; alternativamente, si no hay grupo alquileno, los dos enlaces covalentes sencillos se ubican en diferentes miembros del anillo. Por ejemplo, con respecto al grupo R_A, si A es un (piperidinil)alquilenoC_2 y M es COOH, una parte R_A formada así es:



Un "sustituyente", como se emplea en el presente documento, se refiere a una parte molecular que está unida por enlace covalente a un átomo dentro de la molécula de interés.

Por ejemplo, un sustituyente en un anillo puede ser una parte tal como un halógeno, grupo alquilo o grupo haloalquilo u otro grupo que tenga enlace covalente con un átomo (preferiblemente un átomo de carbono o nitrógeno) que es miembro de un anillo. Los sustituyentes de grupos aromáticos generalmente tienen enlace covalente con un átomo de carbono de un anillo. El término "sustitución" se refiere al reemplazo de un átomo de hidrógeno en una estructura molecular con un sustituyente tal que la valencia del átomo designado no sea excedida y tal que de la sustitución resulte un compuesto químicamente estable (i.e., un compuesto que puede ser aislado, caracterizado y ensayado en cuanto a su actividad biológica).

Los grupos que son "opcionalmente sustituidos" son no sustituidos o los sustituyentes no son hidrógeno en una o más posiciones disponibles, característicamente en 1, 2, 3, 4 o 5 posiciones, por uno o más grupos apropiados (que pueden ser iguales o diferentes). La sustitución opcional también se indica con la frase "sustituido con de 0 hasta X sustituyentes", en donde X es el número máximo de sustituyentes posibles. Ciertos grupos opcionalmente sustituidos se sustituyen con de 0 a 2, 3 o 4 sustituyentes seleccionados independientemente (i.e., no se sustituyen o se sustituyen con hasta el máximo número citado). Otros grupos opcionalmente sustituidos se sustituyen con por lo menos un sustituyente (e.g., sustituidos con de 1 a 2, 3 o 4 sustituyentes seleccionados independientemente).

El término "$P2X_7$" de aquí en adelante se refiere a cualquier receptor $P2X_7$, preferiblemente un receptor de mamífero

172

tal como los receptores $P2X_7$ de humanos y de ratas divulgados en la Patente de los EE. UU. No. 6,133,434, así como también homólogos de los mismos encontrados en otras especies.

Un "modulador del $P2X_7$", al que también se hace referencia en el presente documento como un "modulador", es un compuesto que modula la activación del $P2X_7$ y/o la actividad mediada por el $P2X_7$ (e.g., transducción de la señal). Los moduladores del $P2X_7$ proporcionados específicamente en el presente documento son compuestos de Fórmula I y sus sales farmacéuticamente aceptables. Un modulador puede ser agonista o antagonista del $P2X_7$.

Un modulador se considera un "antagonista" si inhibe la transducción de la señal mediada por el $P2X_7$ de manera detectable (usando, por ejemplo, un ensayo representativo proporcionado en el Ejemplo 4); en general, un antagonista tal inhibe la activación del $P2X_7$ con un valor de IC_{50} inferior a 20 micromolar, preferiblemente inferior a 10 micromolar, más preferiblemente inferior a 5 micromolar, más preferiblemente inferior a 1 micromolar, aún más preferiblemente inferior a 500 nanomolar, y mayormente preferible inferior a 100 nanomolar en un ensayo proporcionado en el Ejemplo 4. Los antagonistas del $P2X_7$ incluyen antagonistas neutros y agonistas inversos.

Un "agonista inverso" del $P2X_7$ es un compuesto que reduce la actividad del $P2X_7$ por debajo de su nivel de actividad basal en ausencia de ligando agregado. Los agonistas inversos del $P2X_7$ también pueden inhibir la actividad del ligando en el $P2X_7$ y/o la unión del ligando al $P2X_7$. La actividad basal del $P2X_7$,

así como también la reducción en la actividad del $P2X_7$ debida a la presencia de un antagonista del $P2X_7$, pueden determinarse a partir de un ensayo de movilización del calcio (e.g., el ensayo del ejemplo 4).

Un "antagonista neutro" del $P2X_7$ es un compuesto que inhibe la actividad del ligando en $P2X_7$, pero no cambia significativamente la actividad basal del $P2X_7$ (i.e., en el ensayo de movilización del calcio según se describe en el Ejemplo 4 efectuado en ausencia de ligando, la actividad del $P2X_7$ se reduce en no más del 10%, preferiblemente en no más del 5% y más preferiblemente en no más del 2%; mayormente preferible, no hay reducción detectable en la actividad). Los antagonistas neutros del $P2X_7$ pueden inhibir la unión del ligando al $P2X_7$.

Según se emplea en el presente documento, un "agonista del $P2X_7$" es un compuesto que eleva la actividad del $P2X_7$ por encima del nivel basal de actividad del $P2X_7$ (i.e., intensifica la activación del $P2X_7$ y /o la actividad mediada por el $P2X_7$, tal como la transducción de la señal). La actividad agonista del $P2X_7$ puede ser detectada empleando el ensayo representativo proporcionado en el Ejemplo 4. Agonistas del $P2X_7$ incluyen ATP y 2'(3')-O-(4-benzoil-benzoil)adenosin5'-trifosefato (BzATP).

Una "cantidad terapéuticamente efectiva" (o dosis) es una cantidad que, al administrarla a un paciente, tiene como resultado un beneficio discernible para el paciente (e.g., proporciona alivio detectable de por lo menos una condición en tratamiento). Tal alivio puede detectarse empleando cualquier

criterio apropiado, incluyendo el alivio de uno o más síntomas tal como el dolor. Una cantidad terapéuticamente efectiva o dosis por lo general tiene como resultado una concentración del compuesto en un fluido corporal (tal como sangre, plasma, suero, CSF, fluido sinovial, linfa, fluido celular intersticial, lágrimas u orina) que es suficiente para alterar la transducción de señal mediada por el $P2X_7$ (empleando un ensayo proporcionado en el Ejemplo 4). Será claro que el beneficio discernible en el paciente puede evidenciarse después de la administración de una dosis única, o puede evidenciarse después de la administración repetida de la dosis terapéuticamente efectiva de acuerdo con un régimen predeterminado, dependiendo de la indicación para la cual se administra el compuesto.

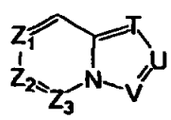
Por "estadísticamente significativo", según se emplea en el presente documento, se entiende resultados que varían del control en el nivel $p<0,1$ de significación según medición que emplea un ensayo de parámetros estándar de significación estadística tal como una prueba T de Student.

Un "paciente" es cualquier individuo tratado con un compuesto proporcionado en el presente documento. Los pacientes incluyen humanos, así como también otros animales tales como los animales de compañía (e.g., perros y gatos) y ganadería. Los pacientes pueden estar presentando uno o más síntomas de una condición que responde a la modulación del $P2X_7$ o pueden estar libres de tal(es) síntoma(s) (i.e., el tratamiento puede ser profiláctico en un paciente que se considera en riesgo de desarrollar tales síntomas).

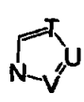
ANÁLOGOS DE AMIDAS HETEROARÍLICAS

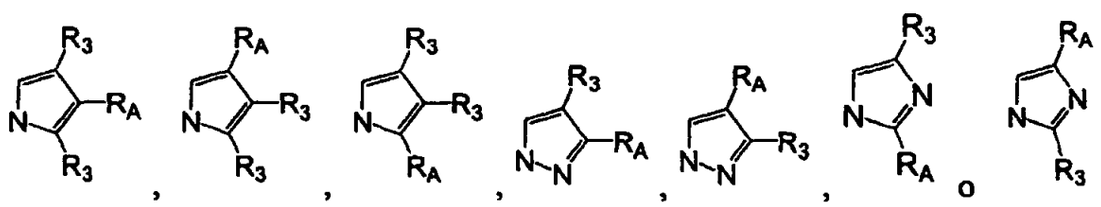
Como se observó anteriormente, la presente invención proporciona análogos de amidas heteroarílicas de la Fórmula I. Dentro de ciertos aspectos, tales compuestos son moduladores que pueden ser usados en una variedad de contextos, incluyendo el tratamiento de condiciones que responden a modulación del $P2X_7$, tal como el dolor. Esos moduladores también son útiles como sondas para la detección y localización del $P2X_7$ y como estándares en los ensayos de transducción de la señal mediada por el $P2X_7$.

Dentro de la Fórmula I, el núcleo heteroarilo:



Comprende por lo menos un átomo de nitrógeno, como se indica, y opcionalmente comprende un(os) átomo(s) adicional(es) de nitrógeno en uno o más entre T,U,V,Z,Z_2, y/o Z_3. En ciertas modalidades, Z_3 es CR_2; en modalidades adicionales, Z_3 es CH. Dentro de otras modalidades, Z_1, Z_2 y Z_3 son, cada uno, CR_2. La porción de anillo de 5 miembros del núcleo:

 es, dentro de ciertas modalidades,



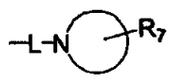
Donde está presente, cada R_3 generalmente es como se describió anteriormente; en ciertos compuestos cada R_3 es independientemente hidrógeno o alquilo C_1-C_4.

La variable R_A es un sustituyente en el anillo como se describió antes. En ciertos compuestos, exactamente uno entre T, U y V es CR_A (i.e. uno y solo uno entre T, U y V es un átomo de carbono que es sustituido con R_A). Los grupos RA representativos incluyen, por ejemplo hidroxialquilo C_1-C_6, cianoalquilo C_1-C_6, alquenilo C_2-C_6, éter de alquilo C_2-C_6, fenil alquilo C_0-C_4 *(e.g.,* fenil alquilo C_1-C_4), (heterociclo de 4 a 7 miembros)alquilo C_0-C_4, (alquilsulfonilamino C_1-C_6)alquilo C_0-C_4, (alcanoiloxi C_1-C_6)alquilo C_0-C_4, (alquilsulfoniloxi C_1-C_6)alquilo C_0-C_4, (mono- o di- alquilamino C_1-C_6)alquilo C_0-C_4, y (mono- o di- alquilaminocarbonilo C_1-C_6)alquilo C_0-C_4; cada uno de los cuales se sustituye con de 0 a 4 sustituyentes elegidos independientemente entre: (i) oxo, halógeno, amino, ciano, hidroxi, aminocarbonilo, aminosulfonilo y COOH; y (ii) alquilo C_1-C_6, hidroxialquilo C_1-C_6, alcoxi C_1-C_6, éter de alquilo C_2-C_6, alcanoilamino C_1-C_6, mono o di (alquilo C_1-C_6) amino, alquilsulfonilo C_1-C_6, alquilsulfonilamino C_1-C_6, mono- o di alquilaminocarbonilo C_1-C_6, mono o di alquilaminosulfonilo C_1-C_6, fenil y heterociclo de 4 a 7 miembros; cada uno de los cuales se sustituye con de 0 a 4 sustituyentes elegidos independientemente entre: halógeno, hidroxi, amino, oxo, aminocarbonilo, aminosulfonilo, COOH, alquilo C_1-C_4 y haloalquilo C_1-C_4.

Dentro de ciertas modalidades, R_A es hidroxialquilo C_1-C_6, cianoalquilo C_1-C_6, cianoalquenilo C_2-C_6, éter de alquilo C_2-C_6,

(mono o di alquilamino C_1-C_6)alquilo C_0-C_4, (mono o di alquilaminocarbonilo C_1-C_6)alquilo C_0-C_4, o (heterociclo de 4 a 7 miembros)alquilo C_1-C_4; cada uno de los cuales se sustituye con de 0 a 4 sustituyentes elegidos independientemente entre, hidroxi, oxo, halógeno, aminocarbonilo, aminosulfonilo, alquilo C_1-C_6, hidroxialquilo C_1-C_6, alcoxi C_1-C_6, éter de alquilo C_2-C_6, mono o di (alquil C_1-C_6)amino, mono o di alquilaminocarbonilo C_1-C_6, alquilsulfonilo C_1-C_6, alquilsulfonilamino C_1-C_6, heterocicloalquilo de 4 a 7 miembros, y heteroarilo de 5 o 6 miembros.

Dentro de modalidades adicionales la porción "M" de R_A es un heterocicloalquilo de enlace en N. Algunos de tales grupos R_A satisfacen la Fórmula:

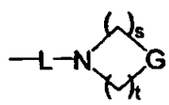


en donde: L está ausente o es un alquileno C_1-C_6 que está opcionalmente sustituido con oxo;  representa un heterocicloalquilo de 4 a 7 miembros que está opcionalmente fusionado con un fenilo o con un heteroarilo de 5 o 6 miembros; y R_7 representa desde 0 hasta 4 sustituyentes elegidos independientemente entre: (i) hidroxi, amino, oxo, aminocarbonilo, aminosulfonilo y COOH; (ii) alquilo C_1-C_6, mono o di (alquilC_1-C_6)aminoalquilo C_0-C_4, alquilsulfonilC_1-C_6alquilo C_0-C_4, alquilsulfonilaminoC_1-C_6alquilo C_0-C_4, y heterociclo de 4 a 7 miembros; cada uno de los cuales se sustituye con de 0 a 4 sustituyentes elegidos independientemente entre halógeno,

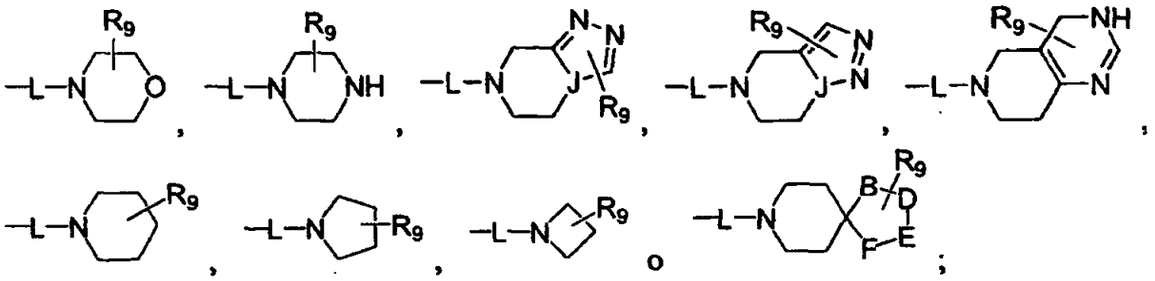
178

hidroxi, amino, oxo, aminocarbonilo, aminosulfonilo, COOH, alquilo C_1-C_6, alcoxi C_1-C_6, mono o di (alquil C_1-C_6)amino, y alquilsulfonilamino C_1-C_6; (iii) Sustituyentes que se toman conjuntamente para formar un puente de la Fórmula $-(CH2)_q-P-(CH2)_r-$, en donde q y r son independientemente 0 o 1 y P es CH2, O, NH o S; y (iv) Sustituyentes que se toman conjuntamente para formar un heterocicloalquilo espiro de 4 a 7 miembros que es sustituido con de 0 a 2 sustituyentes elegidos independientemente entre oxo y alquilo C_1-C_4.

Ciertas de tales partes R_A satisfacen adicionalmente la Fórmula:



en donde L es alquileno C_1-C_6 que es opcionalmente sustituido con oxo; G es CHR_8, NH u O; s y t son independientemente 0, 1, 2, 3 o 4, de modo tal que la suma de s y t varíe de 2 a 5; y R_8 es: (i) hidrógeno, amino, aminocarbonilo, aminosulfonilo COOH; o (ii) alquilo C_1-C_6, mono o di (alquilC_1-C_6)aminoalquilo C_0-C_4, alquilsulfonilo C_1-C_6 alquilo C_0-C_4, alquilsulfonilamino C_1-C_6 alquilo C_0-C_4, o heterociclo de 4- a 7-miembros; cada uno de los cuales es sustituido con de 0 a 4 sustituyentes independientemente elegidos entre halógeno, hidroxi, amino, oxo, aminocarbonilo, aminosulfonilo, COOH, alquilo C_1-C_6, alcoxi C_1-C_6, mono o di (alquil C_1-C_6)amino, y alquilsulfonilamino C_1-C_6. Otras de tales partes de R_A satisfacen adicionalmente las siguientes Fórmulas:



en donde J es CH o N; B, D, E y F son elegidos independientemente entre CH_2, NH y O; y R_9 representa de 0 a 2 sustituyentes independientemente elegidos entre: (i) amino, aminocarbonilo y COOH; y (ii) alquilo C_1-C_6, mono o di (alquilC_1-C_6)aminoalquilo C_0-C_2, alquilsulfonilo C_1-C_6 y alquilsulfonilamino C_1-C_6; cada uno de los cuales es sustituido con de 0 a 3 sustituyentes independientemente elegido entre halógeno, hidroxi, oxo y COOH.

Dentro de otras modalidades, R_A es alquilo C_1-C_6, alquenilo C_2-C_6, éter de quilo C_2-C_6, o mono o di (alquil C_1-C_6)aminoalquilo C_0-C_4, cada uno de los cuales es sustituido con desde 1 hasta 4 sustituyentes independientemente elegidos entre halógeno, hidroxi, ciano, amino, oxo, aminocarbonilo, aminosulfonilo, COOH, alquilo C_1-C_6, alcoxi C_1-C_6, mono o di (alquil C_1-C_6)amino, alcanoilamino C_1-C_6, alquilsulfonilo C_1-C_6, alquilsulfoniloxi C_1-C_6, alquilsulfonilamino C_1-C_6, fenilo que es opcionalmente sustituido con halógeno o alquilo C_1-C_4, y heterociclo de 4 a 7 miembros que es opcionalmente sustituido con alquilo C_1-C_4. Representantes de tales grupos R_A incluyen, por ejemplo, mono (alquilC_1-C_6)aminoalquilo C_0-C_2 y éter de alquilo C_2-C_6, cada uno de los cuales es sustituido con de 1 a 4 sustituyentes independientemente elegidos entre halógeno, hidroxi, oxo, COOH, alquilo C_1-C_4 y alcoxi C_1-C_4.

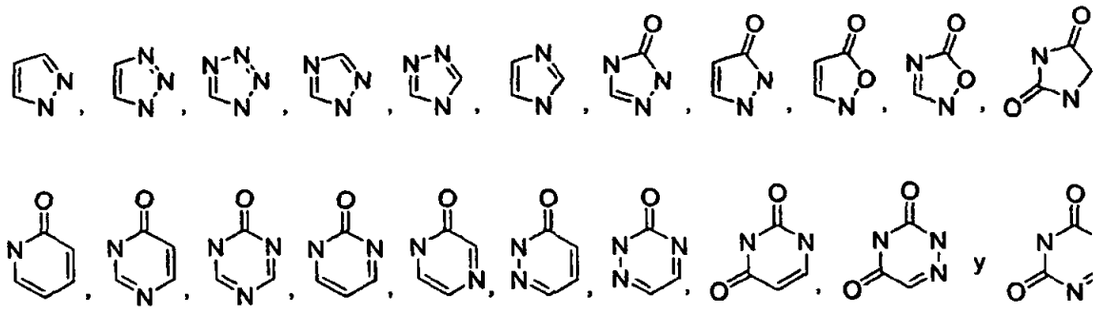
180

Aún dentro de modalidades adicionales, R_A es un grupo de la Fórmula L-A-M como se describió anteriormente, en donde L no está ausente; A está ausente; y M es fenilo o un heteroarilo de 5 o 6 miembros, cada uno de los cuales es sustituido con de 0 a 4 sustituyentes independientemente elegidos entre oxo, amino, halógeno, hidroxi, ciano, aminocarbonilo, aminosulfonilo, COOH, alquilo C_1-C_6, hidroxialquilo C_1-C_6, haloalquilo C_1-C_6, alcoxi C_1-C_6, haloalcoxi C_1-C_6, éter de alquilo C_2-C_6, alcanoilamino C_1-C_6, mono o di (alquil C_1-C_6)amino, alquilsulfonilo C_1-C_6, alquilsulfonilamino C_1-C_6, mono o di (alquilC_1-C_6)aminosulfonilo, mono o di (alquilamino C_1-C_6)carbonilo, y heterociclo de 4 a 7 miembros. Dentro de algunos de tales compuestos, M es un heteroarilo de 5 o 6 miembros, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido. Algunas de tales partes de heteroarilo incluyen, por ejemplo:

(i) imidazolilo, triazolilo, tetrazolilo, piridilo, piridazinilo o pirimidinilo, cada uno de los cuales es sustituido con de 0 a 4 sustituyentes independientemente elegidos entre, amino, halógeno, hidroxi, ciano, aminocarbonilo, aminosulfonilo, COOH, alquilo C_1-C_6, hidroxialquilo C_1-C_6, haloalquilo C_1-C_6, alcoxi C_1-C_6, haloalcoxi C_1-C_6, éter de alquilo C_2-C_6, alcanoilamino C_1-C_6, mono o di (alquil C_1-C_6) amino, alquilsulfonilo C_1-C_6, alquilsulfonilamino C_1-C_6, mono o di (alquil C_1-C_6)aminosulfonilo, mono o di (alquilamino C_1-C_6)carbonilo, y heterociclo de 4 a 7 miembros; y

(ii)

181



cada uno de los cuales es sustituido con de 0 a 2 sustituyentes independientemente elegidos entre amino, halógeno, hidroxi, ciano, aminocarbonilo, aminosulfonilo, COOH, alquilo C_1-C_6, hidroxialquilo C_1-C_6, haloalquilo C_1-C_6, alcoxi C_1-C_6, haloalcoxi C_1-C_6, éter de alquilo C_2-C_6, alcanoilamino C_1-C_6, mono o di (alquil C_1-C_6)amino, alquilsulfonilo C_1-C_6, alquilsulfonilamino C_1-C_6, mono o di (alquilC_1-C_6)aminosulfonilo, mono o di (alquilamino C_1-C_6)carbonilo , y heterociclo de 4 a 7 miembros.

Dentro de otras modalidades, R_A es un grupo de la Fórmula L-A-M, en donde L es alquileno C_0-C_3 que es opcionalmente sustituido con oxo o COOH; A está ausente; y M es fenilo que es sustituido con amino, ciano, aminocarbonilo, aminosulfonilo, COOH o alquilo C_1-C_6.

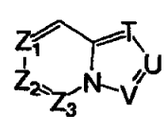
Dentro de otras modalidades, R_A es un grupo de la Fórmula L-A-M, en donde L es alquileno C_1-C_2 que es opcionalmente sustituido con oxo; A es ausente; y M es mono o di (alquil C_1-C_6)amino que es sustituido con un heteroarilo de 5 o 6 miembros, heteroarilos cada uno de los cuales es sustituido con de 0 a 4 sustituyentes independientemente elegidos entre oxo, amino, halógeno, hidroxi, ciano, aminocarbonilo, aminosulfonilo, COOH, alquilo C_1-C_6, hidroxialquilo C_1-C_6, haloalquilo C_1-C_6, alcoxi C_1-C_6, haloalcoxi C_1-C_6, éter de

182

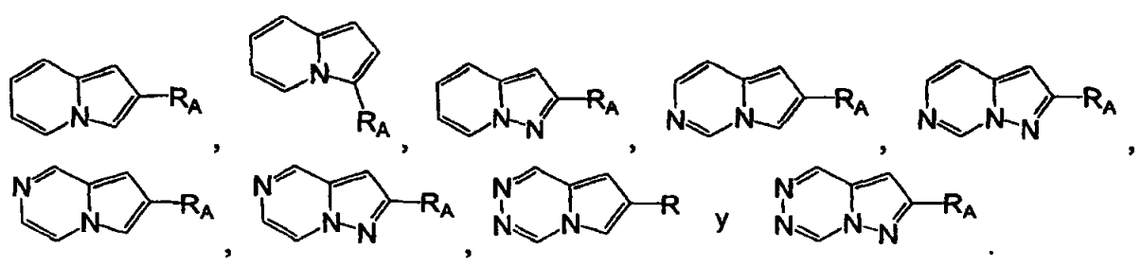
alquilo C_2-C_6, alcanoilamino C_1-C_6, mono o di (alquil C_1-C_6)amino, alquilsulfonilo C_1-C_6, alquilsulfonilamino C_1-C_6, mono o di (alquil C_1-C_6)aminosulfonilo, mono o di (alquilamino C_1-C_6)carbonilo, y heterociclo de 4 a 7 miembros. Heteroarilos representativos de 5 o 6 miembros son como se ilustró anteriormente.

Como se observó anteriormente, cada una de las variables Z_1, Z_2 y Z_3 en la Fórmula A o en la Fórmula I es generalmente N, CH o carbono substituido. Dentro de ciertas modalidades, Z_1, Z_2 y Z_3 son cada una CR_2; Z_1 es N y Z_2 y Z_3 son cada una CR_2; Z_2 es N y Z_1 y Z_3 son cada una CR_2; Z_3 es N y Z_1 y Z_3 son cada una CR_2; Z_1 y Z_3 son N y Z_2 es CR_2. Cada R_2, entre algunos de tales compuestos, es hidrógeno o alquilo C_1-C_6.

Algunos núcleos heteroarílicos representativos:



incluyen, por ejemplo:



La variable "W": como se observó anteriormente en forma general W es -C(=0)NR4-, -NR4C(=0) o -NR4-NR4-C(=0)-. Será claro que se pretende retener la orientación de esos grupos; por ejemplo, en un compuesto en el cual W es -C(=0)NR4-, el carbonilo de W es directamente enlazado al anillo de 6 miembros

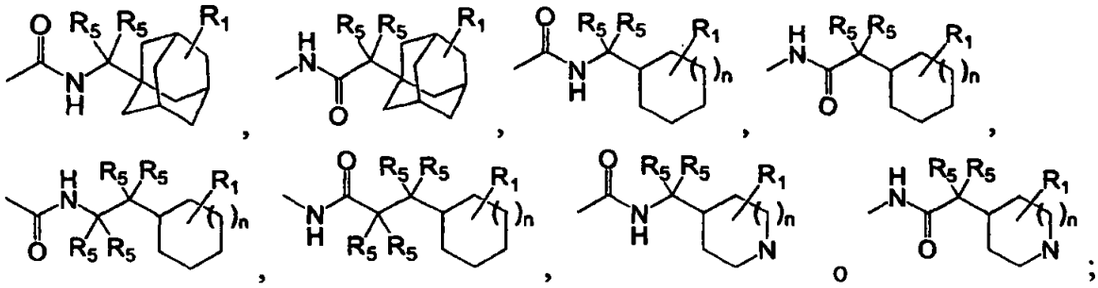
del núcleo del bicíclico y el nitrógeno de W está enlazado directamente a X. R_4 generalmente es como se describió anteriormente; en algunas modalidades R_4 es hidrogeno o metilo.

La variable "X" generalmente es como se describió anteriormente; en algunas modalidades X es alquileno C_1-C_4 *(e.g.,* metileno o etileno), cada uno de los cuales es sustituido con de 0 a 4 sustituyentes independientemente elegidos entre alquilo C_1-C_4, (cicloalquil C_3-C_8)alquilo C_0-C_2, fenilo y sustituyentes que se toman conjuntamente para formar un anillo de 3 a 7 miembros de cicloalquilo o de heterocicloalquilo .

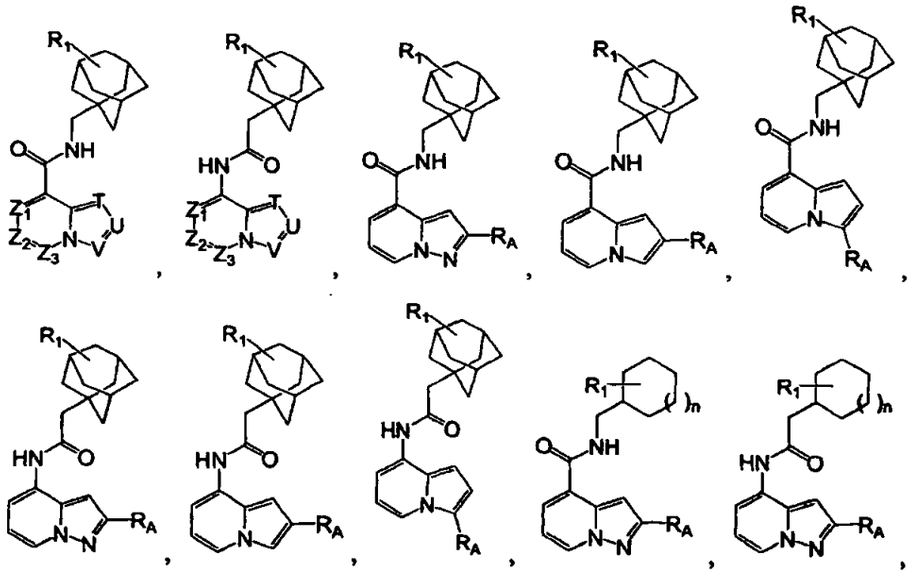
La variable "Y" generalmente es una parte cíclica, opcionalmente sustituida. En ciertos compuestos Y es un grupo cicloalquilo o un heterocicloalquilo, tal como ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, piperidinilo, piperazinilo, morfolinilo, o adamantilo, cada uno de los cuales es opcionalmente sustituido cono se describió anteriormente; en algunos de tales compuestos, cada parte de Y está sustituida con de 0 a 4 sustituyentes independientemente elegidos entre halógeno, hidroxi, ciano, amino, alquilo C_1-C_6, alquenilo C_2-C_6, alquinilo C_2-C_6, haloalquilo C_1-C_6, hidroxialquilo C_1-C_6, alcoxi C_1-C_6, y mono o di (alquil C_1-C_6)amino.

Dentro de ciertos análogos de amidas heteroarílicas proporcionados en el presente documento, -W-X-Y es:

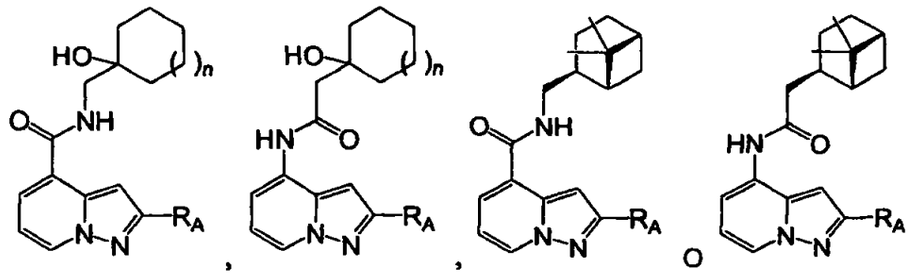
184



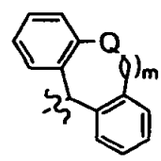
en donde: n es 0, 1 o 2; R_1 representa desde 0 hasta 2 sustituyentes independientemente elegidos entre hidroxi, ciano, amino, nitro, aminocarbonilo, aminosulfonilo, alquilo C_1-C_6, alquenilo C_2-C_6, alquinilo C_2-C_6, haloalquilo C_1-C_6, hidroxialquilo C_1-C_6, alcoxi C_1-C_6, haloalcoxi C_1-C_6, (cicloalquil C_3-C_7)alquilo C_0-C_4, y mono o di (alquil C_1-C_6)amino; o dos sustituyentes representados por R_1 son tomados conjuntamente para formar un puente alquileno C_1-C_3 o un anillo fusionado o espiro de 3 a 7 miembros carbocíclico o heterocíclico; y cada R_5 es independientemente hidrógeno, alquilo C_1-C_6, cicloalquilo C_3-C_7 o fenilo; o dos R_5 son tomados conjuntamente para formar un cicloalquilo C_3-C_8. Algunos de tales compuestos satisfacen adicionalmente la Fórmula:



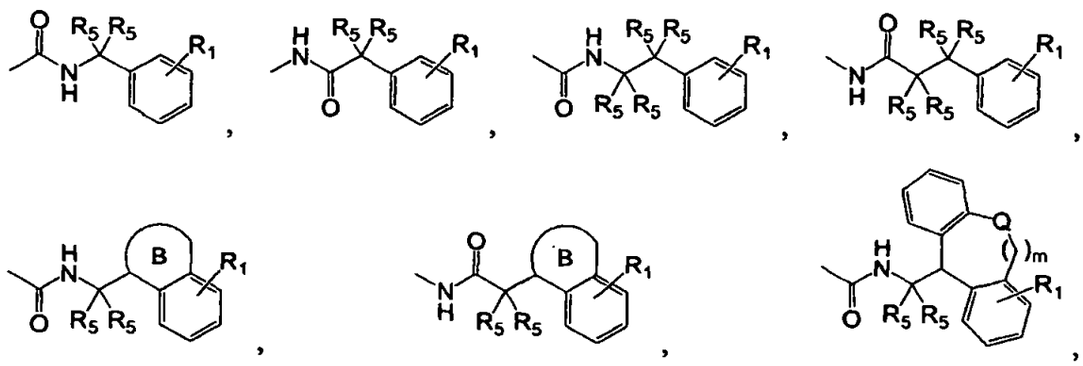
185



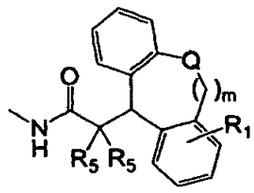
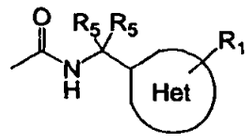
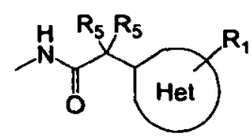
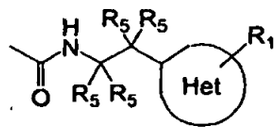
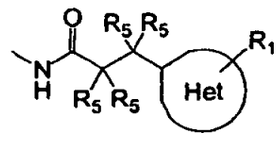
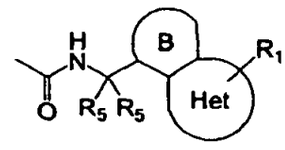
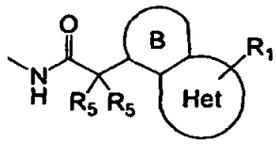
Dentro de otros compuestos Y es una parte aromática tal como: (i) fenilo o un heteroarilo de 5 o 6 miembros, cada uno de los cuales está fusionado con un anillo carbocíclico o heterocíclico de 5 a 7 miembros;

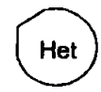


cada Y es sustituida con desde 0 hasta 4 sustituyentes independientemente elegidos entre halógeno, hidroxi, ciano, amino, alquilo C_1-C_6, alquenilo C_2-C_6, alquinilo, C_2-C_6, haloalquilo C_1-C_6, hidroxialquilo C_1-C_6, alcoxi C_1-C_6 y mono o di (alquil C_1-C_6)amino. Dentro de ciertos compuestos, -W-X-Y es:

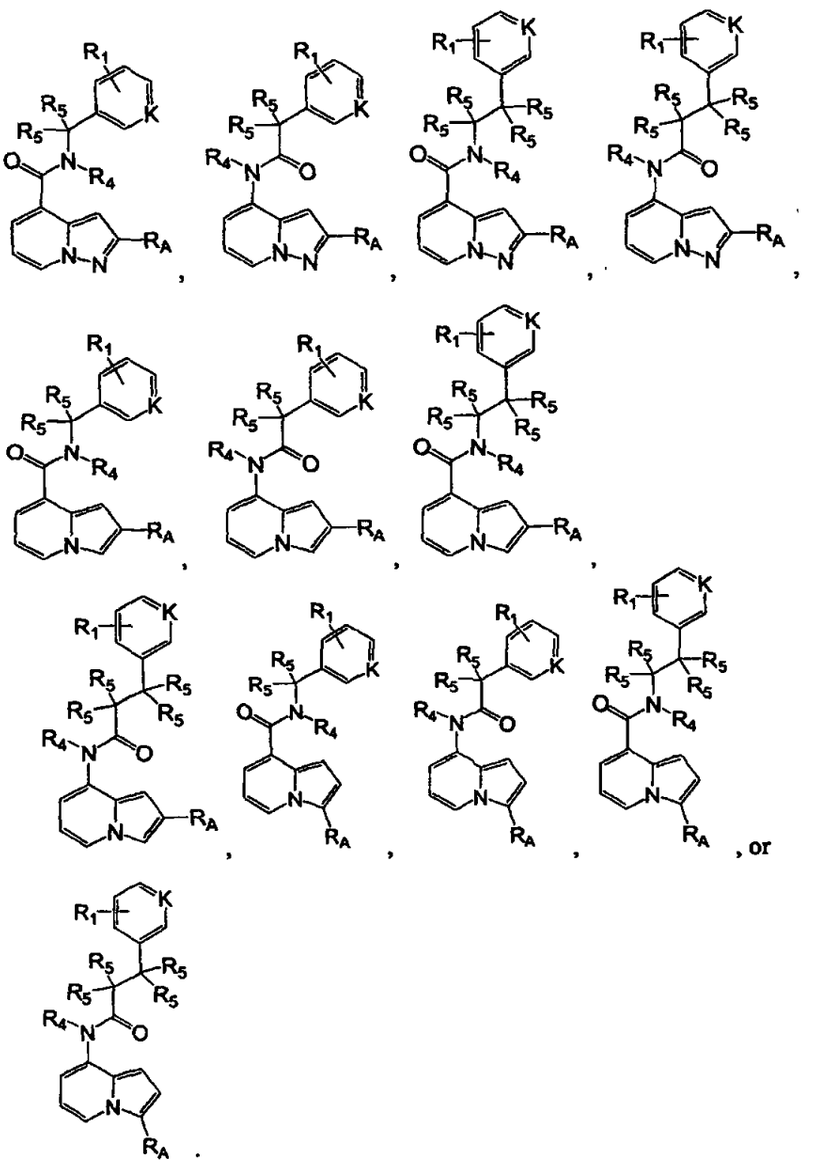


186


,

,

,

,

,

O

;

en donde  es un anillo carbocíclico o  heterocíclico de 5 a 7 miembros; es un heteroarilo de 5 o 6 miembros; R_1 representa de 0 a 2 sustituyentes escogidos independientemente entre halógeno, hidroxi, ciano, amino, nitro, aminocarbonilo, aminosulfonilo, alquilo C_1-C_6, alquenilo C_2-C_6, alquinilo C_2-C_6, haloalquilo C_1-C_6, hidroxialquilo C_1-C_6, alcoxi C_1-C_6, haloalcoxi C_1-C_6, (cicloalquil C_3-C_7) alquilo C_0-C_4, y mono o di-(alquil C_1-C_6) amino, o, dos sustituyentes representados por R_1 se toman conjuntamente para formar un anillo fusionado o espiro heterocíclico o carbocíclico de 3- a 7- miembros; cada R_5 es independientemente hidrógeno, alquilo C_1-C_6, cicloalquilo C_3-C_7 o fenilo; o dos R_5 se toman conjuntamente para formar un cicloalquilo C_3-C_8; Q es CH_2, CO, O, NH, S, SO o SO_2; y m es 0 o 1. Algunos de tales componentes satisfacen además la fórmula:

187



en donde K es CH o N. Será claro que cuando K es CH, el átomo de carbono en la posición K puede, pero no necesita, ser sustituido con un sustituyente representado por R_1.

Los análogos representativos de amidas heteroarílicas proporcionados en el presente documento incluyen, pero no están limitados a, aquellas específicamente descritas en los Ejemplos 1-3. Será claro que los componentes específicos enumerados aquí son sólo representativos, y no pretenden limitar el campo de aplicación de la presente invención. Además, como se anotó anteriormente, todos los componentes de la presente invención

pueden estar presentes como ácido o base libres, o como una sal aceptable farmacéuticamente. También, otras formas tales como hidratos y profármacos de tales componentes son contemplados específicamente por la presente invención.

Dentro de ciertos aspectos de la presente invención, los análogos de amida heteroarílica proporcionados en el presente documento, alteran (modulan) la actividad del $P2X_7$ en forma detectable, como se determinó utilizando un ensayo tal como el ensayo citado en el ejemplo 4, en el presente documento. Ensayos adicionales que pueden ser usados con este propósito incluyen ensayos que miden la liberación de IL-1β; ensayos que miden la captación de un colorante fluorescente que no permea la membrana tal como YO-PRO1; ensayos que miden la captación del amarillo iluminador; ensayos que miden la captación de bromuro de etidio; y ensayos que usan imágenes de calcio para detectar la actividad del $P2X_7$; todos esos ensayos son bien conocidos en la técnica. Ciertos moduladores proporcionados en el presente documento modulan de manera detectable la actividad del $P2X_7$ a concentraciones micromolares, a concentraciones nanomolares, o a concentraciones subnanomolares.

Como se nota por lo anterior, los compuestos que son antagonistas del $P2X_7$ son preferidos dentro de ciertas modalidades. Los valores de IC_{50} para tales componentes pueden ser determinados usando un ensayo estándar para movilización de calcio *in vitro* mediada por $P2X_7$, como se establece en el ejemplo 4. Brevemente, las células que expresan el $P2X_7$ son contactadas con un compuesto de interés y con un indicador de

concentración de calcio intracelular (e.g., un tinte sensible al calcio y que permea la membrana tal como Fluo-3, Fluo-4 o Fura-2 (Invitrogen, Carlsbad, CA), cada uno de los cuales produce una señal fluorescente cuando se fija al Ca++). Tal contacto es preferiblemente llevado a cabo por una o más incubaciones de las células en búfer o en medio de cultivo que contiene uno o ambos, compuesto e indicador, en solución. El contacto es mantenido por una cantidad suficiente de tiempo para permitir que el tinte entre en las células (e.g., 1-2 horas). Las células son lavadas o filtradas para remover el tinte en exceso y son luego puestas en contacto con un agonista del $P2X_7$ (e.g., ATP o 2'(3')-O-(4-benzoil-benzoil)adenosin 5'-trifosfato en, por ejemplo, una concentración igual al EC_{50} del agonista), y se mide la respuesta de la fluorescencia. Cuando las células contactadas por el agonista son puestas en contacto con un compuesto que es antagonista del $P2X_7$, la respuesta de florescencia es generalmente reducida en al menos 20%, preferiblemente al menos el 50% y más preferiblemente en al menos 80%, cuando se compara con células que son puestas en contacto con el agonista en ausencia del compuesto de prueba. IC_{50} significa Concentración Inhibitoria al 50%, i.e., la concentración del compuesto que inhibe la actividad del receptor (e.g., $P2X_7$) en 50% en un ensayo. Nótese que un valor más bajo del IC_{50} para un compuesto en un receptor particular corresponde al compuesto que exhibe más potencia en ese receptor, y los valores más altos del IC_{50} corresponden a menos potencia en ese receptor. En ciertas modalidades, los antagonistas del $P2X_7$ proporcionados en el presente documento

190

exhiben una actividad agonista no detectable en un ensayo in vitro de agonismo del $P2X_7$ a una concentración de compuesto igual al IC_{50}. Algunos de tales antagonistas exhiben una actividad agonista no detectable en un ensayo *in vitro* para agonismo del $P2X_7$ a una concentración de compuesto que es 100 veces más alta que el IC_{50}.

La actividad modulatoria del $P2X_7$ puede también, o alternativamente, evaluarse usando un ensayo de alivio del dolor *in vivo* como se determina en el ejemplo 5. Los moduladores proporcionados en el presente documento tienen preferiblemente un efecto específico estadísticamente significativo sobre la actividad del $P2X_7$ dentro de tal ensayo funcional.

En ciertas modalidades, los moduladores preferidos son no sedantes. En otras palabras, una dosis de modulador que es el doble de la dosis mínima suficiente para lograr analgesia en un modelo animal para determinar el alivio del dolor (tal como el modelo mencionado en el ejemplo 5, en el presente documento) causa sólo sedación temporal (i.e., duradera por no más de la ½ del tiempo de lo que dura el alivio del dolor) o preferiblemente sedación no estadísticamente significativa en un modelo de ensayo de sedación en animales (usando el método descrito por Fitzgerald et al. (1988) Toxicology 49(2-3):433-9). Preferiblemente, una dosis que es cinco veces la dosis mínima suficiente para producir analgesia no produce una sedación estadísticamente significativa. Más preferiblemente, un modulador proporcionado en el presente documento no produce sedación en dosis intravenosas de menos de 25 mg/kg

(preferiblemente menos de 10 mg/kg) o en dosis orales de menos de 140 mg/kg (preferiblemente menos de 50 mg/kg, más preferiblemente menos de 30 mg/kg).

Si se desea, los compuestos mencionados aquí mismo pueden ser evaluados para ciertas propiedades farmacológicas incluyendo, pero no limitadas a: biodisponibilidad oral (los compuestos preferidos son biodisponibles oralmente en la medida que permitan las concentraciones terapéuticamente efectivas del compuesto a dosis orales de menos de 140 mg/kg, preferiblemente menos de 50 mg/kg, más preferiblemente menos de 30 mg/kg, aún más preferiblemente de menos de 10 mg/kg, todavía más preferiblemente de menos de 1 mg/kg y mucho más preferiblemente de menos de 0,1 mg/kg), toxicidad (un compuesto preferido es no tóxico cuando una cantidad terapéuticamente efectiva es administrada a un sujeto), efectos colaterales (un compuesto preferido produce efectos colaterales comparables a los de un placebo cuando se administra una cantidad terapéuticamente efectiva a un sujeto), fijación en seroproteína y vida media *in vitro* e *in vivo* (un compuesto preferido exhibe una vida-media *in vivo* que permite una dosificación de no más que Q.I.D., preferiblemente una dosificación de T.I.D., más una preferiblemente dosificación de B.I.D. y lo más preferiblemente dosificación de una-vez-al-día). Además, puede ser deseable seleccionar componentes con penetración diferencial de la barrera hematoencefálica. Para los moduladores usados para tratar el dolor o enfermedad neurodegenerativa mediante la modulación de la actividad del $P2X_7$ en el CNS, se prefiere penetración alta de la barrera hematoencefálica, tal que las

dosis orales diarias totales, como se describió anteriormente, proporcionen tal modulación en el CNS hasta un punto terapéuticamente efectivo, mientras que los compuestos que exhiben penetración baja de la barrera hematoencefálica que resultan en niveles cerebrales bajos de los moduladores pueden preferirse para tratar el dolor mediado por nervios periféricos o ciertas enfermedades inflamatorias periféricas (e.g., artritis reumatoide). Preferiblemente tales componentes de baja penetración de la barrera hematoencefálica a tales dosis, no proporcionan niveles cerebrales (e.g., CSF) de compuesto suficientes para modular la actividad del $P2X_7$ en un grado terapéuticamente o clínicamente efectivo. Los ensayos de rutina que son bien conocidos en la técnica pueden ser usados para evaluar estas propiedades e identificar los compuestos superiores para un uso particular. Por ejemplo, los ensayos usados para predecir la biodisponibilidad incluyen el transporte a través de las células intestinales humanas de capa monomolecular, incluyendo las células de capa monomolecular Caco-2. La penetración de la barrera hematoencefálica de un compuesto en humanos puede ser predicha a partir de los niveles cerebrales del compuesto en animales de laboratorio a los que se les ha dado el compuesto (e.g., intravenoso). La fijación de seroproteína puede predecirse a partir de los ensayos de fijación en albúmina. La vida-media del compuesto es inversamente proporcional a la frecuencia de dosificación de un compuesto. Las vidas-medias *in vitro* de los compuestos pueden ser predichas a partir de los ensayos de vida-media microsómica como se describe, por ejemplo, dentro del Ejemplo 7 de la

Publicación de la Solicitud de Patente de los EE. UU. No. 2005/0070547.

Como se anotó anteriormente, los compuestos preferidos proporcionados en el presente documento no son tóxicos. En general, el término "no tóxico" debe ser entendido en un sentido relativo y se pretende que se refiera a cualquier sustancia que ha sido aprobada por la Administración de Drogas y Alimentos de los EE. UU. ("FDA") para administrarla a mamíferos (preferiblemente humanos) o, en consonancia con el criterio establecido, es susceptible de aprobación por la FDA para administrarla a mamíferos (preferiblemente humanos). Además, un compuesto no tóxico altamente preferido generalmente satisface uno o más de los siguientes criterios: (1) no inhibe sustancialmente la producción celular del ATP; (2) no prolonga significativamente los intervalos QT cardíacos; (3) no causa agrandamiento sustancial del hígado, o (4) no causa liberación sustancial de enzimas hepáticas.

Como se usa en el presente documento, un compuesto que no inhibe sustancialmente la producción del ATP celular es un compuesto que satisface el criterio definido en el ejemplo 8 de la Publicación de Solicitud de Patente de los EE. UU. No. 2005/0070547. En otras palabras, las células tratadas como se describe aquí mismo con 100 µM de tal componente exhiben niveles ATP que son por lo menos el 50% de los niveles de ATP detectados en células no tratadas. En modalidades mucho más preferidas, tales células exhiben niveles de ATP que son por lo menos el 80% de los niveles detectados en células no tratadas.

Un compuesto que no prolonga significativamente los intervalos QT cardíacos es un compuesto que no tiene como resultado un prolongación estadísticamente significativa de los intervalos QT cardíacos (según se determina por electrocardiografía) en cobayas, minicobayas o perros que están bajo administración de una dosis que produce una concentración en suero igual a la del EC_{50} o IC_{50} para el compuesto. En ciertas modalidades preferidas, dosis de 0,01, 0,05, 0,1, 0,5, 1, 5, 10, 40 0 50 mg/kg administradas parentalmente u oralmente tiene como resultado una prolongación estadísticamente significativa de los intervalos QT cardíacos.

Un compuesto no causa agrandamiento sustancial del hígado si el tratamiento diario de roedores de laboratorio (e.g., ratones o ratas) por 5-10 días con una dosis que produce una concentración en suero igual a la del EC_{50} e IC_{50} para el compuesto tiene como resultado un incremento de la relación de peso entre el hígado y el cuerpo que no sea más del 100% por encima de las pruebas de control. En modalidades de mayor preferencia, tales dosis no causan agrandamiento del hígado de más del 75% 0 50% por encima de las prueba de control. Si se usan mamíferos no roedores (e.g., perros), tales dosis no deberían tener como resultado un incremento de la relación de peso entre el hígado y el cuerpo de más (sic) del 50%, preferiblemente no más del 25% y más preferiblemente no más del 10% por encima de las pruebas de control sin tratamiento. Las dosis preferidas dentro de tales ensayos incluyen 0,01, 0,05, 0,1, 1, 5, 10, 40, o 50 mg/kg administradas parental u oralmente.

Similarmente, un compuesto no promueve una liberación sustancial de la encimas hepáticas si la administración del doble de la dosis mínima que produce una concentración de suero igual a la del EC_{50} o IC_{50} del $P2X_7$ para el compuesto no eleva los niveles en el suero del ALT, LDH o AST en animales de laboratorio (e.g., roedores) por más del 100% por encima de las pruebas de control con tratamiento simulado. En modalidades mucho más preferidas, tales dosis no elevan tales niveles en suero en más de 75% o 50% por encima de las pruebas de control. Alternativamente, un compuesto no promueve una liberación sustancial de enzimas hepáticas si, en un ensayo para hepatocitos *in vitro*, las concentraciones (en medios de cultivo u otras tales soluciones que se ponen en contacto y se incuban con hepatocitos *in vitro*) que son iguales a EC_{50} o IC_{50} para el compuesto, no causan una liberación detectable de cualquiera de tales enzimas del hígado en medios de cultivo por encima de los niveles básicos observados en el medio en pruebas de control para células con tratamiento simulado. En modalidades mucho más preferidas, no hay liberación detectable de ninguna de tales enzimas hepáticas en el medio de cultivo por encima de los niveles básicos cuando tales concentraciones del componente quintuplican, y preferiblemente decuplican el EC_{50} o el IC_{50} para el compuesto.

En otras modalidades, algunos compuestos preferidos no inhiben o inducen las actividades de la enzima microsómica P450 en el citocroma, tal como la actividad CYP1A2, actividad CYP2A6, actividad CYP2C9, actividad CYP2C19, actividad CYP2D6, actividad CYP2E1 o actividad CYP3A4 a una concentración igual a

la EC_{50} o IC_{50} para el compuesto en $P2X_7$.

Algunos compuestos preferidos no son clastogénicos (e.g., como se determinó usando un ensayo con micronúcleos de células precursoras de eritrocitos en ratones, un ensayo con micronúcleos Ames, un ensayo con micronúcleos en espiral o similares) a una concentración igual a la EC_{50} o IC_{50} para el componente. En otras modalidades, ciertos compuestos preferidos no inducen un intercambio de cromátidas idénticas (e.g., en células de ovario de hámster Chino) a tales concentraciones.

Para propósitos de detección, como se discute en detalle más adelante, los moduladores proporcionados en el presente documento pueden ser marcados con isótopos o con radio. La sustitución con isótopos pesados tales como el deuterio (i.e., ^2H) puede permitir ciertas ventajas terapéuticas resultantes de una mayor estabilidad metabólica, por ejemplo incremento de vida-media in vivo o requerimientos de dosis reducidas y, por tanto, puede ser preferida en algunas circunstancias.

PREPARACIÓN DE ANÁLOGOS DE AMIDA HETEROARÍLICA

Los análogos de amidas heteroarílicas pueden generalmente ser preparados usando métodos para síntesis estándar. Las materias primas están comercialmente disponibles de proveedores tales como Sigma-Aldrich Corp. (St. Louis, MO), o pueden ser sintetizadas a partir de precursores disponibles comercialmente usando protocolos establecidos. A manera de ejemplo, se puede usar una ruta para síntesis similar a aquella mostrada en cualquiera de los siguientes Esquemas, junto con métodos para síntesis conocidos en la técnica de química orgánica de

197

síntesis. En algunos casos, pueden ser requeridos grupos protectores durante la preparación. Tales grupos protectores pueden ser removidos por métodos bien conocidos para aquellos con experiencia corriente en la técnica, tales como los métodos descritos en Greene and Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis" (2nd Edition, John Wiley & Sons, 1991). En algunos casos, se pueden efectuar transformaciones orgánicas adicionales empleando métodos bien conocidos para aquellos con experiencia corriente en la técnica, tales como los métodos descritos en Richard C. Larock, "Comprehensive Organic Transformation," (VCH Publisher, Inc. 1989). Cada variable en los siguientes Esquemas se refiere a cualquier grupo consistente con la descripción de los componentes proporcionados en el presente documento. Las condiciones de reacción representativas para uso dentro de los siguientes esquemas son proporcionadas en los Ejemplos.

Algunas abreviaciones usadas en los siguientes Esquemas y en otras partes del presente documento incluyen:

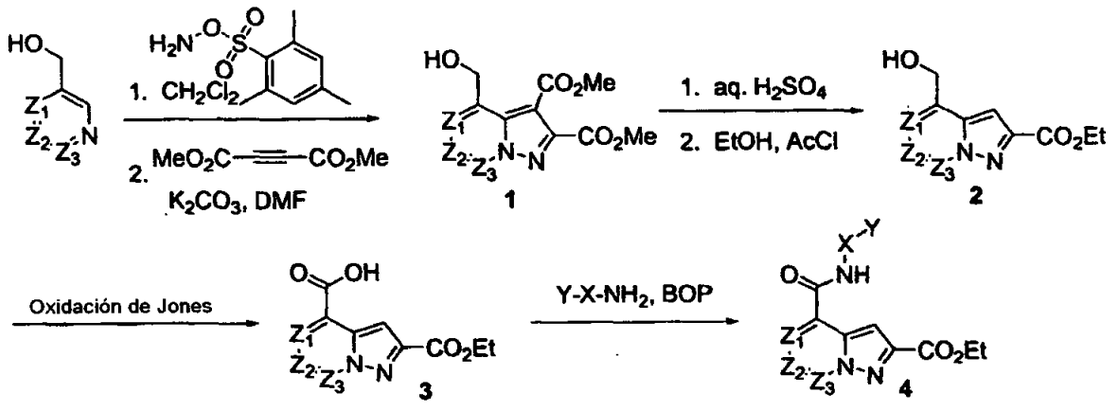
Ac	acetil
ac.	acuoso(a)
ACN	acetonitrilo
BOP	benzoatrizol-1-iloxitris(dimetilamino)fosfonio hexafluorofosfato
Bu	butil
δ	cambio químico
DCM	diclorometano

198

DIBAL-H	hidruro de diisobutilaluminio
DMF	dimetilformamida
DMSO	dimetilsulfóxido
Et	etil
EtOAc	acetato de etilo
EtOH	etanol
h	hora(s)
^{1}H NMR	resonancia magnética nuclear de protones
Hz	hertz
iPr	isopropilo
MeOH	metanol
min	minutos(s)
Ms	metansulfonilo
(M+1)	masa+1
Ph_3P	trifenilfosfina
PTLC	cromatografía de capa delgada preparativa
t.a.	temperatura ambiente
TEA	trietilamina
TFA	ácido trifluoroacético
THF	tetrahidrofurano

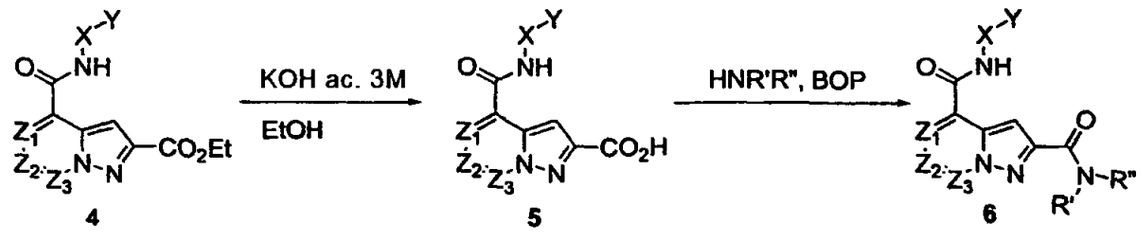
Esquema I

199



En el Esquema I, el éster dimetílico **1** de ácido dicarboxílico es preparado por la reacción del análogo de 3-piridilcarbonilo con *O*-mesitilensulfonilhidroxilamina en presencia de éster dimetílico del ácido acetilen dicarboxílico. La reacción de **1** con H_2SO_4 acuoso produce el análogo del ácido 4-hidroximetilpirazol[1,5-a]piridin-2-carboxílico, el cual es convertido al éster etílico **2** por reacción con cloruro de acetilo en etanol absoluto. La oxidación de **2** con el reactivo de Jones produce ácido carboxílico **3**, el cual es convertido a la amida **4** por reacción con una amina apropiada en presencia de BOP.

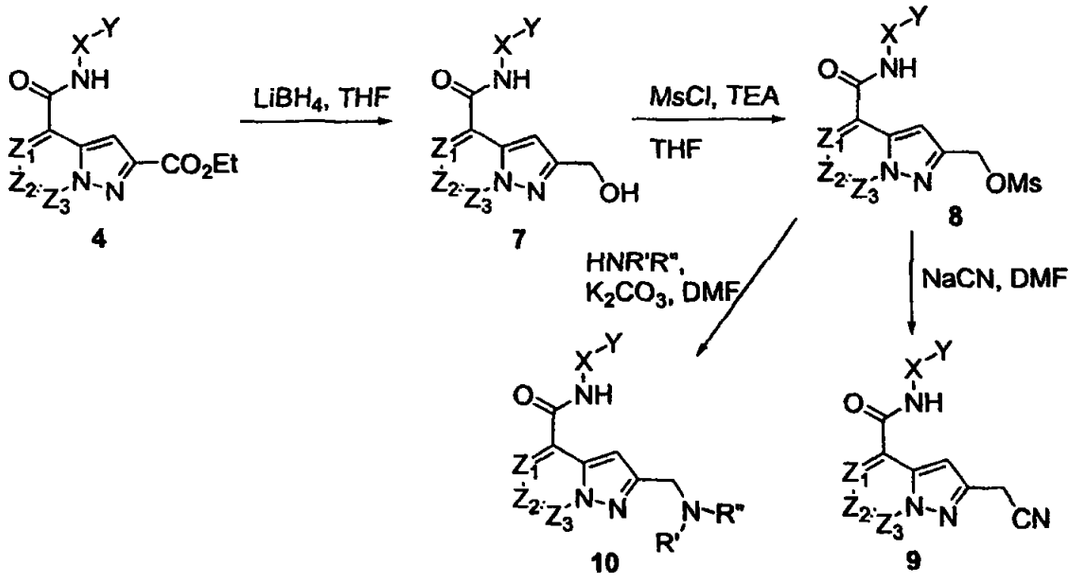
Esquema II



En el Esquema II, el éster **4** es hidrolizado para dar el ácido carboxílico **5**. La amida **6** se prepara por reacción con una amina apropiada en presencia de BOP.

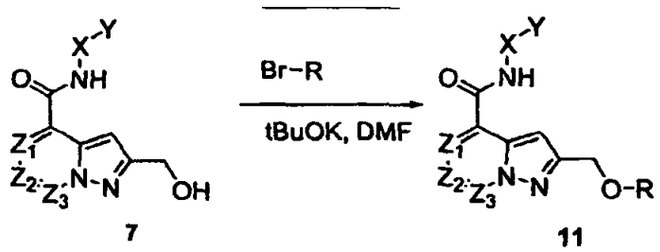
200

Esquema III



En el Esquema III, el éster **4** es reducido al alcohol **7**, el cual se convierte a mesilato **8**. El mesilato **8** se usa luego para generar la amina **10** por reacción con una amina apropiada en presencia de carbonato de potasio, o el derivado cianometilo **9** por reacción con cianuro de sodio.

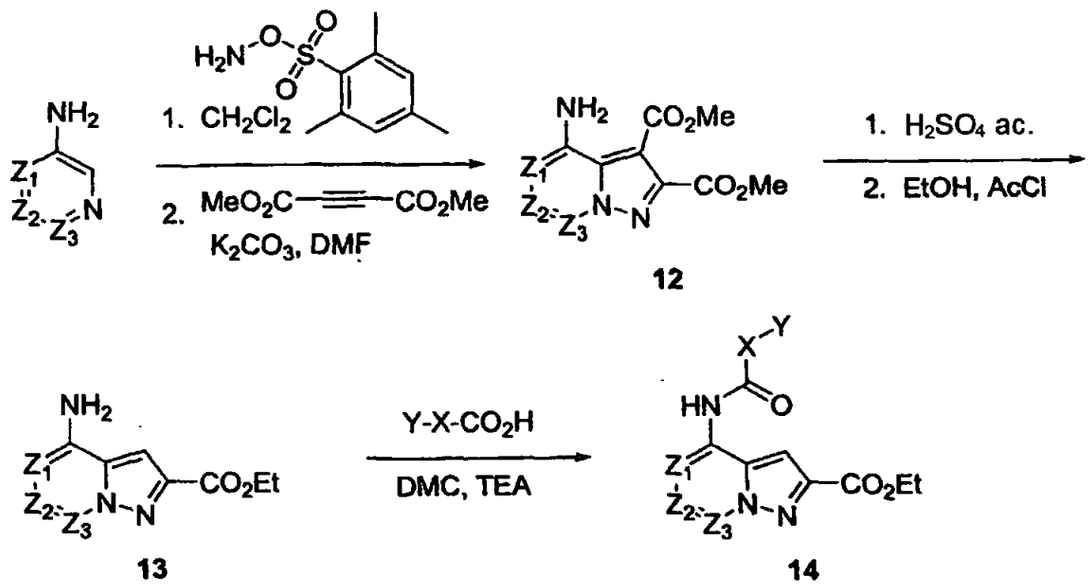
Esquema IV



El Esquema IV ilustra la conversión del alcohol **7** a cualquiera de las variedades de partes de éter, vía reacción con el reactivo bromado apropiado.

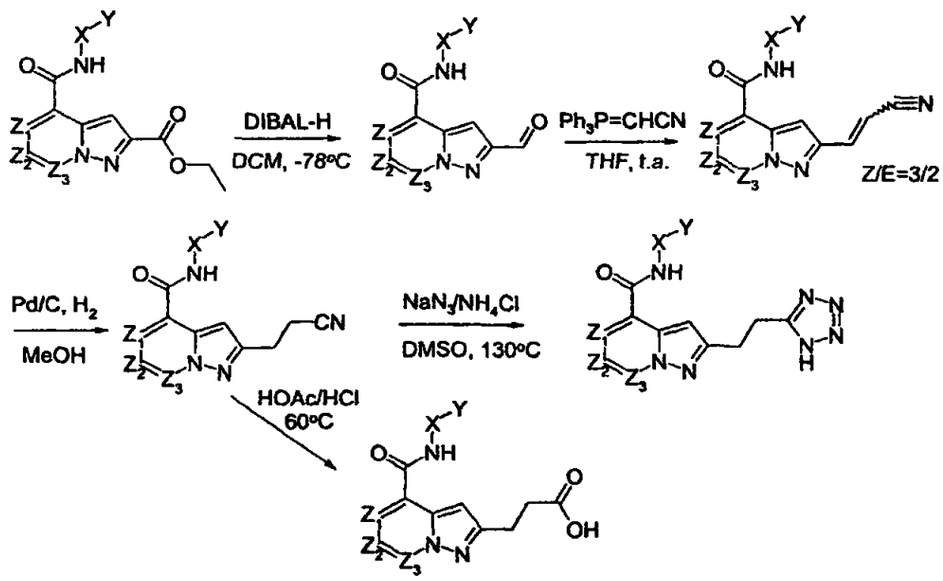
Esquema V

201



En el esquema V, el éster dimetílico **12** del ácido dicarboxílico es preparado por reacción del análogo de 3-aminopropiridina con *O*-mesitilensulfonilhidroxilamina. La reacción de **12** con H2SO4 acuoso produce análogo del ácido 4-aminopirazol[1,5-a]piridin-2-carboxílico **13**, el cual se convierte a la amina **14** por reacción con un ácido carboxílico apropiado.

Esquema VI

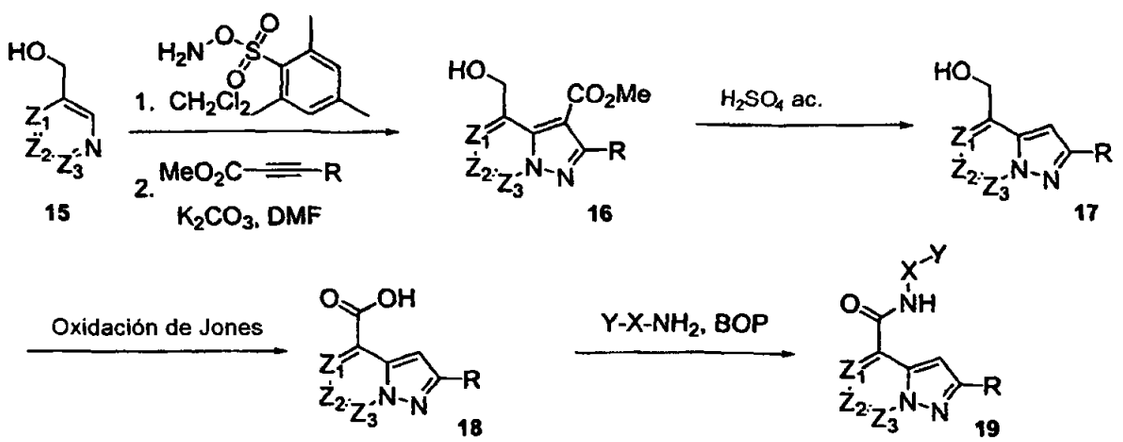


El esquema VI ilustra la síntesis de algunos compuestos

202

representativos de Fórmula I a partir del éster **4**, discutido anteriormente. El derivado de formilo se genera por reacción con DIBAL, y es convertido al derivado cianovinilo (una mezcla de los isómeros Z y E) usando $Ph_3P=CHCN$. Los isómeros pueden separase usando técnicas estándar. La reducción del compuesto de cianovinilo (e.g., con Pd/C y 1 atm H_2) produce el derivado de cianoetilo, el cual puede convertirse a una variedad de compuestos, incluyendo el ácido carboxílico y los compuestos de tetrazoliletilo ilustrados.

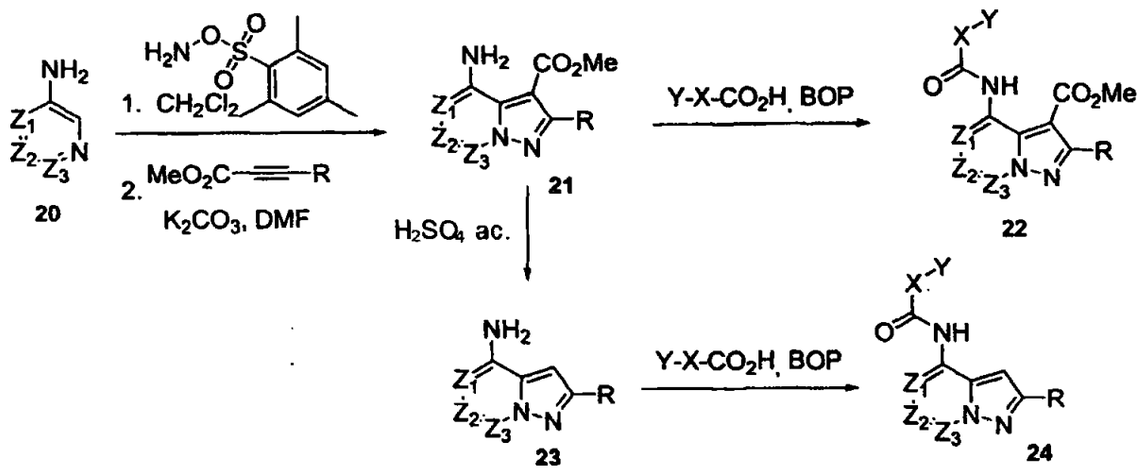
Esquema VII



En el Esquema VII, el éster metílico de ácido carboxílico **16** es preparado por reacción del análogo de 3-piridilcarbonilo **15** con *O*-mesitilenosulfonilhidroxilamina en presencia de un derivado de éster propargílico, en donde R es hidrógeno o cualquier grupo apropiado tal como alquilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo cada uno de los cuales es sustituido opcionalmente. La reacción de **16** con H_2SO_4 acuoso produce la 4-hidroximetilpirazol[1,5-a]piridina **17**. La oxidación de **17** con el reactivo de Jones produce el ácido carboxílico **18**, el cual es convertido a amida **19** por reacción

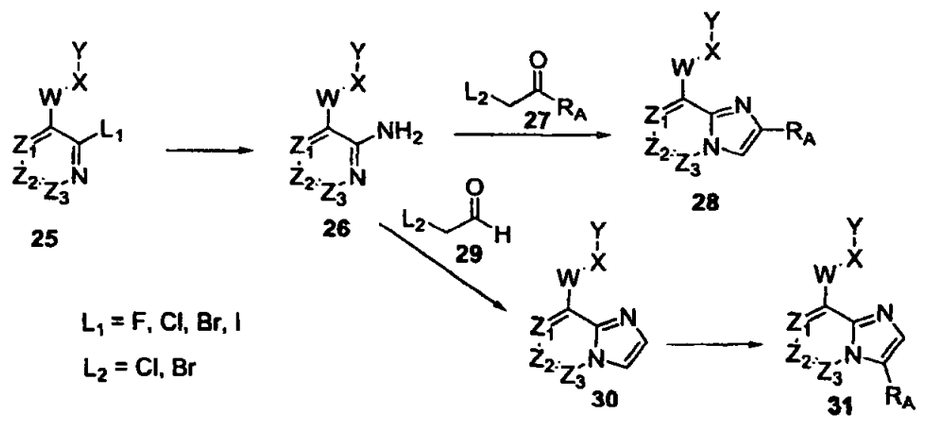
con una amina apropiada en presencia de BOP.

Esquema VIII



En el Esquema VIII, el éster metílico de ácido carboxílico **21** es preparado por reacción del análogo de 3-aminopiridina **20** con O-mesitilenosulfonilhidroxilamina en presencia de un derivado de parpargelato de metilo. La reacción de **21** con H2SO4 acuoso produce el análogo **23** del ácido 4-aminopirazol[1,5-a]piridin-2-carboxílico, el cual es convertido a la amida **24** por reacción con un ácido carboxílico apropiado. Alternativamente se puede hacer reaccionar el **21** directamente con un ácido carboxílico apropiado para dar la amida **22**.

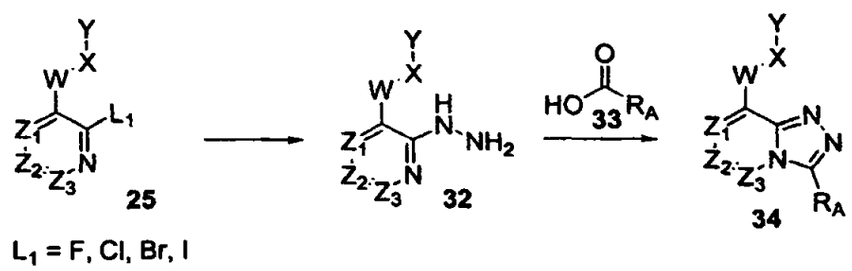
Esquema IX



204

En el Esquema IX, un haluro heterocíclico que contiene nitrógeno **25** es convertido al aminoheterociclo **26** usando cualquier método apropiado, tal como amoníaco en EtOH a t.a. o a temperatura elevada. El amino heterociclo **26** se hace reaccionar con un compuesto halocarbonilo alfa para dar el imidazoheterociclo substituido **28**. El haloaldehído alfa **29** se hace reaccionar con el aminoheterociclo **26** para dar el heterociclo imidazo no sustituido **30**, que puede ser convertido subsecuentemente a imidazoheterociclo sustituido **31** por sustitución electrofílica de la funcionalidad del imidazo (e.g., vía bromación para dar el bromuro), el cual puede ser convertido al imidazoheterociclo **31** deseado.

Esquema X

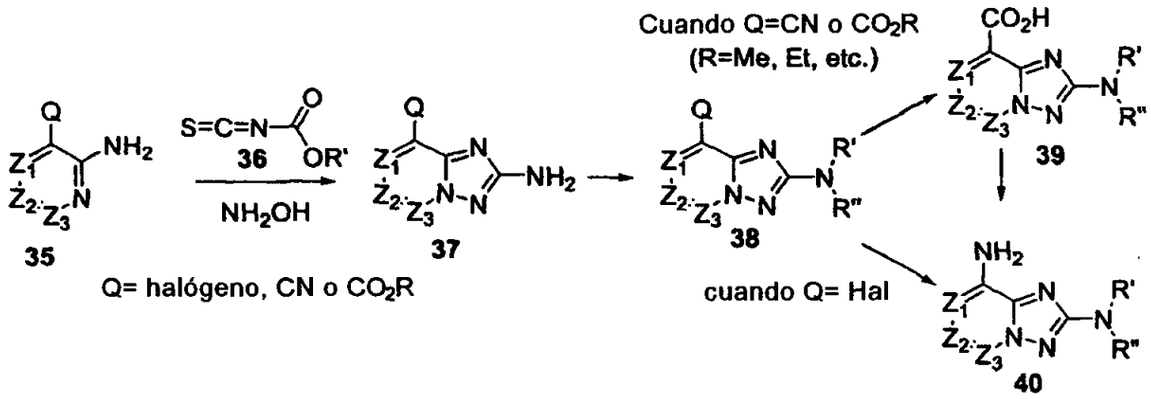


L_1 = F, Cl, Br, I

En el Esquema X, un haluro heterocíclico que contiene nitrógeno **25** es convertido a hidrazinoheterociclo **32** usando un método apropiado, tal como, por ejemplo, reaccionando hidrazina en EtOH a t.a. o a temperatura elevada. El intermedio **32** es convertido a triazolheterociclo **34** por reacción con el ácido **33** sin solvente o con solvente a t.a. o a temperatura elevada.

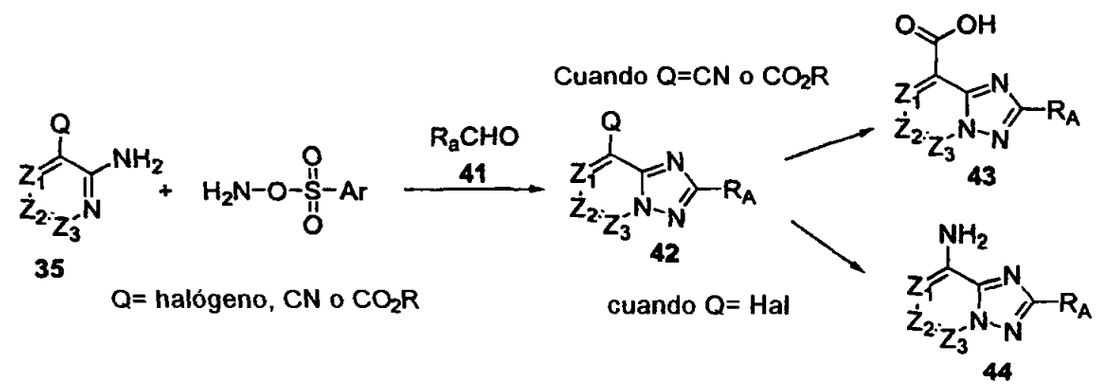
Esquema XI

205



En el Esquema XI, el **35** se hace reaccionar con el isotiocianato **36** para formar el **37**. La amina primaria en el compuesto **37** puede ser de mono o di alilo o acilo para dar el componente **38**. La hidrólisis de **38** (cuando Q es CN o éster) bajo condiciones ácidas da **39**. Alternativamente, si Q es un halógeno, el tratamiento de **38** con amoníaco da el **40**. El **39** y el **40** se convierten fácilmente en compuestos de Fórmula I como se ilustró anteriormente.

Esquema XII

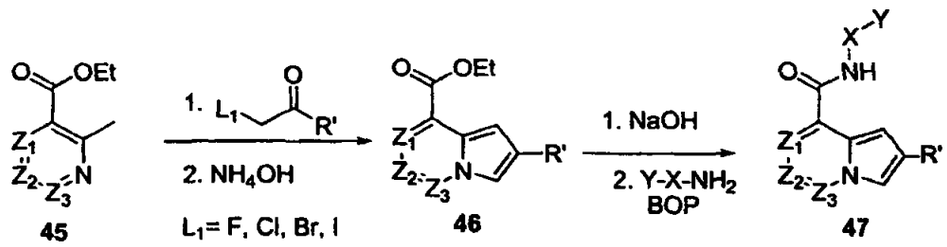


En el Esquema XII, se hace reaccionar el **35** con, por ejemplo, O-mesitilensulfonilhidroxilamina a t.a. El aldehído **41** y KOH acuoso se adicionan luego para dar el intermedio **42**. La hidrólisis de **42** (cuando Q es CN o un éster) bajo condiciones ácidas da **43**. Alternativamente, si Q es halógeno, el

206

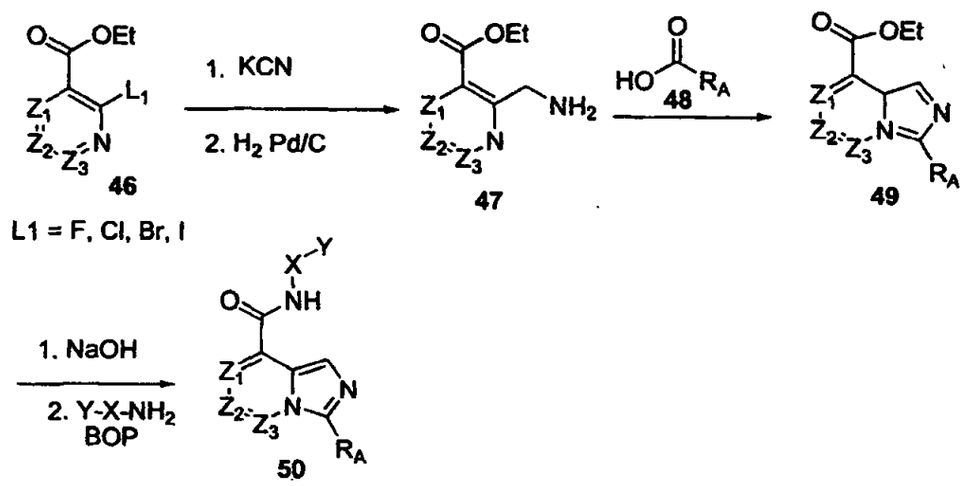
tratamiento de **42** con amoníaco da **44**. El **43** y el **44** son fácilmente convertidos en compuestos de Fórmula I según se ilustra arriba.

Esquema XIII



En el Esquema XIII, el éster del ácido carboxílico de un heterociclo con nitrógeno sustituido por metilo se hace reaccionar con un compuesto alfa-halocarbonilo y la porción intermedia es tratada con hidróxido de amonio para dar el éster **46**. Este es convertido a compuesto objetivo **47** a través de condiciones estándar.

Esquema XIV



En el Esquema XIV, el haluro de un heterociclo que contiene un nitrógeno halogenado **46** se hace reaccionar con cianuro de potasio y el nitrilo resultante se somete a

hidrogenación para dar el **47**. El **47** es condensado con el ácido **48** para dar el heterociclo **49**, el cual es convertido a **50** por los métodos descritos en el presente documento.

En ciertas modalidades, un compuesto proporcionado en el presente documento puede contener uno o más átomos de carbono asimétricos, de tal manera que el compuesto puede existir en diferentes formas estereoisoméricas. Tales formas pueden ser, por ejemplo, racematos o formas ópticamente activas. Como se mencionó anteriormente, todos los estereoisómeros están abarcados por la presente invención. Aun así, puede ser deseable obtener enantiómeros sencillos (i.e., formas activas ópticamente). Los métodos estándar para preparar enantiómeros sencillos incluyen síntesis asimétricas y resolución de los racematos. La resolución de los racematos puede ser llevada a cabo, por ejemplo, por métodos convencionales tales como la cristalización en presencia de un agente para la resolución, o usando cromatografía, por ejemplo, una columna quiral HPLC.

Los compuestos pueden ser marcados con radio efectuando sus síntesis con el empleo de precursores que contienen por lo menos un átomo que es un radioisótopo. Cada radioisótopo es preferiblemente carbono (e.g., ^{14}C), hidrógeno (e.g., ^{3}H), azufre (e.g., ^{35}S) o iodo (e.g., ^{125}I). Los compuestos marcados con tritio pueden también ser preparados catalíticamente vía intercambio catalizado por platino en ácido acético con tritio; intercambio catalizado por ácido en ácido trifluoroacético con tritio; o, intercambio con catalizador heterogéneo con tritio gaseoso usando el compuesto como sustrato. Además, algunos precursores pueden ser sometidos al intercambio halógeno -

tritio con tritio gaseoso; reducción de enlaces no saturados con tritio gaseoso; o, reducción usando borotrituro de sodio, según sea apropiado. La preparación de compuestos marcados con radio puede ser llevada a cabo convenientemente mediante un proveedor de radioisótopos especializado en síntesis según especificaciones de los compuestos sonda marcados con radio.

COMPOSICIONES FARMACÉUTICAS

La presente invención también provee composiciones farmacéuticas que contienen uno o más compuestos proporcionados en el presente documento, junto con por lo menos un portador aceptable fisiológicamente o excipiente. Las composiciones farmacéuticas puede contener, por ejemplo, uno o más entre agua, búferes (e.g., bicarbonato de sodio, salina neutra regulada, o salina regulada con fosfato), etanol, aceite mineral, aceite vegetal, dimetilsulfóxido, carbohidratos (e.g., glucosa, manosa, sacarosa, almidón, manitol o dextranos), proteínas, adyuvantes, polipéptidos, o amino ácidos tales como la glicina, antioxidantes, agentes quelantes tales como el EDTA o glutatión y/o preservativos. Además, otros ingredientes activos pueden (pero no necesitan) ser incluidos en las composiciones farmacéuticas provistas en el presente documento.

Las composiciones farmacéuticas pueden ser formuladas para cualquiera forma adecuada de administración, incluyendo, por ejemplo, administración tópica, oral, nasal, rectal, vaginal o parental. El término parental como se usa en la presente incluye inyección subcutánea, intradérmica, intravascular

(e.g., intravenosa), intramuscular, espinal, intracraneal, intratecal e intraperitoneal, así como también cualquier técnica similar de inyección o infusión. En algunas modalidades, las composiciones pueden ser preparadas como supositorios. En otras modalidades, se prefieren las composiciones adecuadas para uso oral. Tales composiciones incluyen, por ejemplo, tabletas, comprimidos, grageas, suspensiones en agua o en aceite, polvos dispersables o gránulos, emulsión, cápsulas duras o suaves, o jarabes o elíxires. Dentro de otras modalidades, las composiciones farmacéuticas pueden ser formuladas como un liofilizado. La formulación para administración tópica puede ser preferida bajo ciertas condiciones (e.g., en el tratamiento de trastornos de la piel tales como quemaduras o prurito). La formulación para administración directa en la vejiga (administración intravesicular) puede ser preferida para el tratamiento de la incontinencia urinaria y una vejiga hiperactiva.

Las composiciones propuestas para uso oral pueden además contener uno o más componentes tales como agentes edulcorantes, agentes saborizantes, agentes colorantes y/o agentes preservantes con el objeto de proveer preparaciones de buena presentación y buen sabor. Las tabletas contienen el ingrediente activo en combinación con excipientes aceptables fisiológicamente que son adecuados para la fabricación de las tabletas. Tales excipientes incluyen, por ejemplo, diluyentes inertes (e.g., carbonato de calcio, carbonato de sodio, lactosa, fosfato de calcio o fosfato de sodio), granuladores y agentes desintegrantes (e.g., almidón de maíz o ácido

210

algínico), agentes aglutinantes (e.g., almidón, gelatina o acacia) y agentes lubricantes (e.g. estearato de magnesio, ácido esteárico o talco). A las tabletas se les puede dar forma usando técnicas estándar, incluyendo granulación en seco, compresión directa y granulación en humedad. Las tabletas pueden ser no recubiertas o pueden ser recubiertas mediante técnicas conocidas.

Las formulaciones para uso oral pueden ser presentadas también como cápsulas de gelatina dura en donde el ingrediente activo es mezclado con un diluyente sólido inerte (e.g., carbonato de calcio, fosfato de calcio o caolín), o como cápsulas de gelatina suave en donde el ingrediente activo es mezclado con agua o en un medio oleoso (e.g., aceite de maní, parafina líquida o aceite de oliva).

Las suspensiones acuosas contienen el(los) material(es) activo(s) en combinación con excipientes apropiados, tales como agentes para suspensión (e.g., carboximetilcelulosa de sodio. Metilcelulosa, hidropropilmetilcelulosa, alginato de sodio, polivinilpirrolidona, goma tragacanto y goma acacia); y agentes dispersantes o humectantes (e.g., fosfátidos de ocurrencia natural tales como la lecitina, productos de la condensación de un óxido alquileno con ácidos grasos tales como el estearato de polioxietileno, productos de la condensación de óxido de etileno con alcoholes alifáticos de cadena larga tales como heptadecaetilenoxicetanol, productos de la condensación del óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y un hexitol tales como polioxietilen sorbitan

monooleato, o productos de la condensación del óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol tales como polietilen sorbitan monooleato). Las suspensiones acuosas pueden contener también uno o más preservativos, tales como etil o n-propil p-hidroxibenzoato, uno o más agentes colorantes, uno o más agentes saborizantes, y/o uno o más agentes edulcorantes, tales como sacarosa o sacarina.

Las suspensiones en aceite pueden ser formuladas mediante la suspensión del (de los) ingrediente(s) activo(s) en un aceite vegetal (e.g., aceite de arachis, aceite de oliva, aceite de sésamo o aceite de coco) o en un aceite mineral tal como la parafina líquida. Las suspensiones en aceite también pueden contener un agente espesante tal como la cera de abejas, parafina sólida o alcohol cetílico. Los agentes edulcorantes tales como aquellos definidos anteriormente, y/o los agentes saborizantes pueden ser adicionados para proveer preparados orales agradables al paladar. Tales suspensiones pueden ser preservadas mediante la adición de un antioxidante como el ácido ascórbico.

Los polvos que se pueden dispersar y los gránulos adecuados para la preparación de una suspensión acuosa por adición de agua proveen el ingrediente activo en combinación con un agente dispersante o un agente humectante, un agente para la suspensión y uno o más preservativos. Los agentes para la dispersión o los agentes humectantes y los agentes para la suspensión se ejemplifican por aquellos ya mencionados anteriormente. Excipientes adicionales, tales como

edulcorantes, saborizantes y agentes colorantes, pueden también estar presentes.

Las composiciones farmacéuticas pueden ser formuladas también como emulsiones de aceite-en-agua. La fase oleosa puede ser un aceite vegetal (e.g., aceite de oliva o aceite de arachis), un aceite mineral (e.g., parafina líquida) o una combinación de los mismos. Los agentes emulsificantes adecuados incluyen gomas de ocurrencia natural (e.g., goma de acacia o goma tragacanto), fosfátidos de ocurrencia natural (e.g., lecitina de grano de soya y ésteres o ésteres parciales derivados de ácidos grasos y hexitol), anhídridos (e.g., sorbitan monooleato) y productos de condensación de ésteres parciales derivados a partir de ácidos grasos y hexitol con óxido de etileno (e.g., polioxietilen sorbitan monooleato). Una emulsión puede también contener uno o más agentes edulcorantes y/o saborizantes.

Los jarabes y elíxires pueden ser formulados con agentes edulcorantes, tales como glicerol, glicol propileno, sorbitol o sacarosa. Tales formulaciones pueden también comprender uno o más emolientes, preservativos, agentes saborizantes y/o agentes colorantes.

Las formulaciones para administración tópica comprenden típicamente un vehículo tópico combinado con agente(s) activo(S), con o sin componentes adicionales. Vehículos tópicos apropiados y componentes adicionales son bien conocidos en la técnica, y será aparente que la elección de un vehículo dependerá en la forma física en particular y el modo de

liberación. Los vehículos tópicos incluyen agua; solventes orgánicos tales como alcoholes (e.g., etanol, alcohol isopropílico) o glicerina; glicoles (e.g., butileno, isopreno o propilen glicol); alcoholes alifáticos (e.g., lanolina); mezclas de agua y solventes orgánicos y mezclas de solventes orgánicos tales como alcohol y glicerina; materiales basados en lípidos tales como aceites grasos, acilgliceroles (incluyendo aceites, tal como el aceite mineral, y grasas de origen natural o sintético), fosfoglicéridos, esfingolípidos y ceras; materiales basados en proteínas tales como el colágeno y la gelatina; materiales basados en silicona (tanto no volátiles como volátiles); y materiales basados en hidrocarburos tales como las micro esponjas y las matrices poliméricas. Una composición puede además incluir uno o más componentes adaptados para mejorar la estabilidad o efectividad de la formulación aplicada, tales como los agentes estabilizadores, agentes para suspensión, agentes emulsificantes, ajustadores de viscosidad, agentes gelificantes, preservativos, antioxidantes, potenciadores para penetración en la piel, humectantes y materiales de liberación sostenida. Ejemplos de tales componentes son descritos en Martindale—The Extra Pharmacopoeia (Pharmaceutical Press, London 1993) y *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*, 21st ed., Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA (2005). Las formulaciones pueden comprender microcápsulas, tales como microcápsulas de hidroximetilcelulosa o microcápsulas de gelatina, liposomas, microesferas de albúmina, microemulsiones, nanopartículas o nanocápsulas.

Una formulación tópica puede ser preparada en cualquiera de una variedad de formas físicas incluyendo, por ejemplo, sólidos, pastas, pomadas, cremas, espumas, lociones, geles, polvos, líquidos acuosos y emulsiones. La apariencia física y viscosidad de tales formas aceptables farmacéuticamente puede ser gobernada por la presencia y cantidad de emulsificante(es) y ajustador(es) de viscosidad presentes en la formulación. Los sólidos son generalmente firmes y no vertibles y comúnmente son formulados en barras o en etiquetas adhesivas, o en forma particulada; los sólidos pueden ser opacos o transparentes, y opcionalmente pueden contener solventes, emulsificantes, humectantes, emolientes, fragancias, tinturas/colorantes, preservativos y otros ingredientes activos que aumentan o potencian la eficacia del producto final. Las cremas y lociones son a menudo similares entre ellas, y difieren principalmente en su viscosidad; tanto las cremas como las lociones pueden ser opacas o transparentes, y a menudo contienen emulsificantes, solventes, y agentes para ajustar la viscosidad, así como también humectantes, emolientes, fragancias, tinturas/colorantes, preservativos y otros ingredientes activos que aumentan o potencian la eficacia del producto final. Los geles pueden ser preparados con un rango de viscosidades, desde espesos o de viscosidad alta hasta delgados o de viscosidad baja. Estas formulaciones, como aquellas de las lociones y cremas, pueden contener también solventes, emulsificantes, humectantes, emolientes, fragancias, tinturas/colorantes, preservativos y otros ingredientes activos que aumentan o potencian la eficacia del producto final. Los líquidos son más

215

delgados que las cremas, lociones o geles y a menudo no contienen emulsificantes. Los productos de uso tópico líquidos a menudo contienen solventes, emulsificantes, humectantes, emolientes, fragancias, tinturas/colorantes, preservativos y otros ingredientes activos que aumentan o potencian la eficacia del producto final.

Los emulsificantes apropiados para el uso en formulaciones para uso tópico incluyen, pero no están limitados a, emulsificantes iónicos, alcohol cetearílico, emulsificantes no iónicos como el polioxietilen oleil éter, estearato PEG-40, ceteareth-12, ceteareth-20, ceteareth-30, alcohol cetilestearílico, estearato PEG-100 y estearato de glicerilo. Agentes ajustadores de viscosidad apropiados incluyen, pero no están limitados a, coloides protectores o gomas no iónicas tales como hidroxietilcelulosa, goma xantan, silicato de aluminio y magnesio, sílice, cera microcristalina, cera de abejas, parafina y palmitato de cetilo. Una composición en gel puede ser formada por la adición de un agente gelificante tal como chitosan, metil celulosa, etil celulosa, alcohol polivinílico, policuaternarios, hidroxietilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, carbómero o glicrizinato amoniacal. Los tensoactivos apropiados incluyen, pero no están limitados a, tenso activos no iónicos, anfotéricos, iónicos y aniónicos. Por ejemplo, uno o más entre copoliol de dimeticona, polisorbato 20, polisorbato 40, polisorbato 60, polisorbato 80, lauramida DEA, cocamida DEA, y cocamida MEA, oleil betaina, cloruro de cocamidopropil fosfatidil PG-dimonio, y laureth sulfato de amonio pueden ser

usados dentro de formulaciones para uso tópico. Los preservativos apropiados incluyen, pero no están limitados a, antimicrobiales, tales como metilparabeno, propilparabeno, ácido sórbico, ácido benzóico, y formaldehido, así como estabilizadores físicos y antioxidantes tales como la vitamina E, ácido ascórbico/ascorbato de sodio y galato de propilo. Los humectantes apropiados incluyen, pero no están limitados a, ácido láctico y otros ácidos hidroxi y sus sales, glicerina, propilen glicol, y butilen glicol. Los emolientes apropiados incluyen alcohol lanolínico, lanolina, derivados de lanolina, colesterol, petrolato, neopentanoato isoestearílico y aceites minerales. Las fragancias y los colores apropiados incluyen, pero no están limitados a, rojo No. 40 FD&C y amarillo No. 5 FD&C. Otros ingredientes adicionales apropiados que pueden ser incluidos en una formulación para uso tópico incluyen, pero no están limitados a, abrasivos, absorbentes, agentes anti compactantes, agentes antiespumantes, agentes anti-estática, astringentes (e.g., agua de hamamelis, alcohol y extractos herbales tales como el extracto de manzanilla), aglutinantes/excipientes, agentes reguladores, agentes quelantes, agentes formadores de película, agentes acondicionadores, propulsores, agentes opacificantes, de ajustadores y protectores de pH.

Un ejemplo de vehículo para uso tópico adecuado para la formulación de un gel es: hidroxipropilcelulosa (2,1%); alcohol isopropílico/agua 70/30 (90,9%); propilen glicol (5,1%); y Polisorbato 80 (1,9%). Un ejemplo de un vehículo para uso tópico adecuado para formulación como espuma es: alcohol

cetílico (1,1%); alcohol estearílico (0,5%; Quaternium 52 (1,0%); propilen glicol (2,0%); Etanol 95 PGF3 (61,05%); agua deionizada (30,05%); propulsor de hidrocarburo P75 (4,30%). Todos los porcentajes son en peso.

Los modos típicos de entrega para las composiciones de uso tópico incluyen la aplicación con los dedos; la aplicación usando un aplicador físico tal como algodón, pañuelo de papel, estropajo, escobilla o palillo; atomización (incluyendo rociado por vaporización, aerosol o espuma); aplicación con gotero; aspersión; remojo; y enjuague.

Una composición farmacéutica puede ser preparada como una suspensión inyectable estéril acuosa u oleaginosa. El(Los) compuesto(s) proporcionado(s) en el presente documento, dependiendo del vehículo y la concentración usados, pueden o ser suspendidos o ser disueltos en el vehículo. Tal composición puede ser formulada de acuerdo a la técnica conocida y usando agentes para dispersión, agentes hidratantes y/o agentes para suspensión tales como aquellos mencionados anteriormente. Entre los vehículos y solventes aceptables que pueden ser empleados están el agua, 1,3-butanodiol, la solución de Ringer y la solución isotónica de cloruro de sodio. Además, se pueden emplear como medio solvente o de suspensión, los aceites estables, estériles. Para este propósito se puede usar cualquier aceite estable blando, incluyendo los sintéticos mono o diglicéridos. En adición, los ácidos grasos tales como el ácido oléico encuentran uso en la preparación de composiciones inyectables y coadyuvantes tales como los anestésicos locales, los agentes preservativos y/o de amortiguación pueden ser

disueltos en el vehículo.

Las composiciones farmacéuticas también pueden formularse como supositorios (e.g., para administración rectal). Tales composiciones pueden prepararse mezclando el fármaco con un excipiente no irritante apropiado que es sólido a temperaturas ordinarias pero líquido a la temperatura rectal y que por lo tanto se fundirá en el recto para liberar el fármaco. Excipientes apropiados incluyen, por ejemplo, manteca de cacao y polietilen glicoles.

Las composiciones para inhalación característicamente pueden ser proporcionadas en forma de solución, suspensión o emulsión que puede ser administrada como un polvo seco o en forma de aerosol usando un propulsor convencional (e.g., diclorodifluorometano o triclorofluorometano).

Las composiciones farmacéuticas pueden ser formuladas para liberación a una tasa predeterminada. Se puede lograr la liberación instantánea, por ejemplo, administrándola vía sublingual (e.g., administración bucal de tal manera que el(los) ingrediente(s) activo(s) es(son) rápidamente absorbidos vía los vasos sanguíneos bajo la lengua más bien que por el tracto digestivo). Las formulaciones de liberación controlada (e.g., formulaciones tales como una cápsula, tableta, tableta recubierta que hacen lenta y/o demorada la liberación del (de los) ingrediente(S) activo(s) después de la administración) pueden ser administradas, por ejemplo, por vía oral, rectal o implantación subcutánea, o por implantación en un sitio específico. En general, una formulación de liberación

controlada comprende un matriz y/o un recubrimiento que demora la desintegración y la absorción en el tracto gastrointestinal (o en el sitio de la implantación) y por ello provee una acción retardada o una acción sostenida durante un periodo más largo. Un tipo de formulación de liberación controlada es una formulación de liberación sostenida, en la cual por lo menos un ingrediente activo es liberado continuamente durante un periodo de tiempo a una tasa constante. Preferiblemente, el agente terapéutico es liberado a una tasa tal que las concentraciones en la sangre (e.g., plasma) se mantienen dentro del rango terapéutico, pero por debajo de los niveles tóxicos, durante un periodo de tiempo que es por lo menos de 4 horas, preferiblemente por lo menos de 8 horas y más preferiblemente por lo menos de 12 horas. Tales formulaciones pueden ser preparadas generalmente usando tecnología bien conocida y ser administradas, por ejemplo, por vía oral, rectal o implantación subcutánea, o por implantación en el sitio específico deseado. Los portadores para uso dentro de tales formulaciones son biocompatibles y pueden también ser biodegradables; preferiblemente la formulación provee un nivel de liberación moduladora relativamente constante. La cantidad de modulador contenido en la formulación de liberación sostenida depende de, por ejemplo, el sitio de implantación, la tasa y la duración esperada de la liberación y la naturaleza de la condición a ser tratada o prevenida.

La liberación controlada puede ser lograda mediante la combinación del (de los) ingrediente(s) activo(s) con un material matriz que por sí mismo altera la tasa de liberación

220

y/o por el uso de un recubrimiento de liberación controlada. La tasa de liberación puede ser variada usando los métodos bien conocidos en la técnica, incluyendo (a) variación del espesor o la composición del recubrimiento, (b) alterando la cantidad o la forma de adición del plastificante en el recubrimiento, (c) incluyendo ingredientes adicionales, tales como agentes modificadores de la liberación, (d) alterando la composición, tamaño de partícula o forma de partícula de la matriz, y (e) proveyendo uno o más conductos a través del recubrimiento. La cantidad de modulador contenido dentro de una formulación de liberación sostenida depende de, por ejemplo, el método de administración (e.g., el sitio de implantación), la tasa y la duración esperada de la liberación y la naturaleza de la condición a ser tratada o prevenida.

El material de la matriz, el cual por sí mismo puede servir o no servir la función de liberación controlada, es generalmente cualquier material que soporte el(los) ingrediente(s) activo(s). Por ejemplo, se puede emplear un material retardador de tiempo tal como el monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo. El(Los) ingrediente(s) puede(n) ser combinado(s) con material de la matriz antes de la formación de la forma de dosificación (e.g., una tableta, una cápsula, una pastilla o un grano). Alternativamente, o adicionalmente, el(los) ingrediente(s) activo(s) puede(n) ser cubierto(os) en la superficie de una partícula, gránulo, esfera, microesfera, glóbulo o comprimido que contiene el material matriz. Tal recubrimiento puede ser logrado por medios convencionales, tales como disolución del(de los)

ingrediente(s) activo(s) en agua u otro solvente adecuado y atomización. Opcionalmente, antes del recubrimiento se añaden ingredientes adicionales (e.g., para ayudar a la aglutinación del(de los) ingrediente(s) activo(s) con el material matriz o para dar color a la solución). La matriz puede entonces ser recubierta con un agente barrera antes de la aplicación del recubrimiento de liberación controlada. Si se desea, se pueden encapsular múltiples unidades de matriz recubiertas para generar la forma de la dosis final.

En ciertas modalidades, se logra la liberación controlada por medio de un recubrimiento para liberación controlada (e.g., un recubrimiento que permita la liberación del(los) ingrediente(s) activo(s) a una tasa controlada en medio acuoso). El recubrimiento de liberación controlada debería ser una película fuerte, continua que sea suave, capaz de soportar los pigmentos y otros aditivos, no tóxica, inerte y no pegajosa. Los recubrimientos que controlan la liberación del modulador incluyen recubrimientos independientes del pH, recubrimientos dependientes del pH (los cuales puede ser usados para liberar el modulador en el estómago) y recubrimientos entéricos (los cuales permiten que la formulación pase intacta a través del estómago y llegue al intestino delgado, donde el recubrimiento se disuelve y los contenidos son absorbidos por el cuerpo). Será claro que los recubrimientos múltiples pueden ser empleados (e.g., para permitir la liberación de una porción de la dosis en el estómago y una porción posteriormente a lo largo del tracto gastrointestinal). Por ejemplo, una porción del (de los) ingrediente(s) activo(s) puede(n) ser

222

recubierto(s) sobre un recubrimiento entérico, y en consecuencia liberada en el estómago, mientras que el resto de (de los) ingrediente(s) activo(s) en el núcleo matriz es protegido por el recubrimiento entérico y liberado posteriormente en el tracto GI. Los recubrimientos dependientes del pH incluyen, por ejemplo, shellac, ftalato de acetato celulosa, ftalato de acetato de polivinilo, ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa, copolímeros del éster de ácido metacrílico y zeina.

En ciertas modalidades, el recubrimiento es un material hidrofóbico, usado preferiblemente en una cantidad efectiva para retardar la hidratación del agente gelificante siguiente a la administración. Los materiales hidrofóbicos apropiados incluyen celulosas de alquilo (e.g., etilcelulosa o carboximetilcelulosa), éteres de celulosa, ésteres de celulosa, polímeros acrílicos (e.g., poli(ácido acrílico), poli(ácido metacrílico), ácido acrílico, y polímeros de ácido metacrílico, copolímeros de metacrilato de metilo, metacrilatos de etil etoxi, metacrilato de cianoetilo, copolímero de alcamida ácido metacrílico, poli(metacrilato de metilo), poliacrilamida, copolímeros de metacrilato de amonio, copolímero de metacrilato de aminoalquilo, poli(anhídrido de ácido metacrílico) y copolímeros de metacrilato glicidilo) y mezclas de lo anterior. Las dispersiones acuosas de etilcelulosa representativas incluyen, por ejemplo, AQUACOAT® (FMC Corp., Philadelphia, PA) y SURELEASE® (Colorcon, Inc., West Point, PA), las cuales ambas pueden ser aplicadas al sustrato de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Los polímeros acrílicos representativos

incluyen, por ejemplo, los varios polímeros EUDRAGIT® (Rohm America, Piscataway, NJ), los cuales pueden ser usados solos o en combinación dependiendo del perfil de liberación deseado, de acuerdo a las instrucciones del fabricante.

Las propiedades físicas de los recubrimientos que comprenden una dispersión acuosa de un material hidrofóbico puede ser mejorada por la adición de uno o más plastificantes. Los plastificantes adecuados para celulosas de alquilo incluyen, por ejemplo, sebacato de dibutilo, ftalato de dietilo, citrato de trietilo, citrato de tributilo y triacetina. Los plastificantes adecuados para los polímeros acrílicos incluyen, por ejemplo, ésteres de ácido cítrico tales como citrato de etilo y citrato de tributilo, ftalato de dibutilo, polietilen glicoles, propilen glicol, ftalato de dietilo, aceite de castor y triacetina.

Los recubrimientos de liberación controlada son aplicados generalmente usando técnicas convencionales, tales como mediante la atomización en forma de dispersión acuosa. Si se desea, el recubrimiento puede comprender poros o canales para facilitar la liberación del ingrediente activo.

Los poros y canales pueden ser generados por métodos bien conocidos, incluyendo la adición de material orgánico o inorgánico que es disuelto, extraído o percolado del recubrimiento en el ambiente en que se usa. Algunos de tales materiales para la formación de poros incluyen polímeros hidrofílicos, tales como hidroxialquilcelulosas (e.g., hidroxipropilmetilcelulosa), éteres de celulosa, polímeros

224

sintéticos solubles en agua (e.g., polivinilpirrolidona, polivinilpirrolidona reticulada y óxido de polietileno), polidextrosa soluble en agua, sacáridos y polisacáridos y sales de metales alcalinos. Alternativamente, o adicionalmente, un recubrimiento de liberación controlada puede incluir uno o más orificios, los cuales pueden ser formados por métodos tales como los descritos en las patentes de los EE. UU. números 3,845,770; 4,034,758; 4,077,407; 4,088,864; 4,783,337 y 5,071,607. La liberación controlada también puede ser lograda por el uso de parches transdérmicos, usando tecnología convencional (*ver, e.g.*, Patente de los EE. UU. No. 4,668,232).

Ejemplos adicionales de formulaciones de liberación controlada, y los componentes de las mismas se pueden encontrar, por ejemplo en las Patentes de los EE. UU. Nos. 4,572,833; 4,587,117; 4,606,909; 4,610,870; 4,684,516; 4,777,049; 4,994,276; 4,996,058; 5,128,143; 5,202,128; 5,376,384; 5,384,133; 5,445,829; 5,510,119; 5,618,560; 5,643,604; 5,891,474; 5,958,456; 6,039,980; 6,143,353; 6,126,969; 6,156,342; 6,197,347; 6,387,394; 6,399,096; 6,437,000; 6,447,796; 6,475,493; 6,491,950; 6,524,615; 6,838,094; 6,905,709; 6,923,984; 6,923,988; y 6,911,217; cada una de las cuales es incorporada en el presente documento por referencia por su instrucción en la preparación de las formas de dosificación de liberación controlada.

En adición a o junto con los modos de administración anteriores, un compuesto proporcionado en el presente documento puede ser adicionado convenientemente a la comida o agua

225

potable (e.g., para la administración en animales no humanos incluyendo los animales de compañía (tales como perros y gatos) y ganadería). Las composiciones para alimentación animal y para agua potable pueden ser formuladas de manera que el animal tome una cantidad apropiada de la composición junto con su dieta. También puede ser conveniente presentar la composición como una premezcla para la adición a los alimentos o al agua potable.

Los compuestos son administrados generalmente en una cantidad terapéuticamente efectiva. Las dosis sistémicas preferidas son no mayores a 50 mg por kilogramo de peso corporal por día (e.g., en el rango de cerca de 0,001 mg a cerca de 50 mg por kilogramo de peso corporal por día), con dosis orales que generalmente son cerca de 5-20 veces más altas que las dosis intravenosas (e.g., en el rango de 0,01 a 40 mg por kilogramo de peso corporal por día).

La cantidad de ingrediente activo que puede ser combinado con los materiales portadores, para dar un unidad de dosificación sencilla variará dependiendo, por ejemplo, según sea el paciente que se está tratando, el modo particular de administración y cualquiera de las otros medicamentos que se estén administrando. Las unidades de dosificación generalmente contienen entre cerca de 10 µg a cerca de 500 mg de ingrediente activo. Las dosis óptimas se pueden establecer usando pruebas de rutina y procedimientos que son bien conocidos en la técnica.

Las composiciones farmacéuticas pueden ser empacadas para tratar condiciones que responden a la modulación del $P2X_7$

(e.g., dolor, inflamación, neurodegeneración, u otra condición descrita en el presente documento). Las composiciones farmacéuticas empacadas generalmente incluyen (i) un contenedor que retiene una composición farmacéutica que comprende por lo menos un modulador como se describe en el presente documento y (ii) instrucciones (e.g., etiquetado, o un inserto dentro del paquete) indicando que la composición contenida se debe usar para el tratamiento de una condición que responda a la modulación del $P2X_7$ en el paciente.

MÉTODOS DE USO

Los moduladores del $P2X_7$ proporcionados en el presente documento pueden ser usados para alterar la actividad y/o la activación del $P2X_7$ en una variedad de contextos, tanto *in vitro* como *in vivo*. Dentro de ciertos aspectos, los antagonistas del $P2X_7$ pueden ser usados para inhibir la fijación del ligando agonista del $P2X_7$ *in vitro* o *in vivo*. En general, tales métodos comprenden el paso de hacer contactar un $P2X_7$ con uno o más moduladores del $P2X_7$ proporcionados en el presente documento, en presencia del ligando en solución acuosa y bajo distintas condiciones apropiadas para la fijación del ligando al $P2X_7$. El (Los) modulador(es) está(n) generalmente presentes en una concentración que es suficiente para alterar la transducción de la señal mediada por el $P2X_7$ (usando un ensayo proporcionado en el Ejemplo 4). El $P2X_7$ puede estar presente en solución o en suspensión (e.g., en una membrana aislada o preparación celular) o en una célula cultivada o aislada. Dentro de ciertas modalidades, el $P2X_7$ es expresado por una célula que está presente en un paciente, y la solución acuosa es un fluido

corporal. Preferiblemente, se administran uno o más moduladores a un animal en una cantidad tal que el modulador esté presente en por lo menos un fluido corporal del animal en una concentración terapéuticamente efectiva que es 20 micromolar o menos, 10 micromolar o menos, 5 micromolar o menos o 1 micromolar o menos. Por ejemplo, tales compuestos pueden administrarse en una dosis terapéuticamente efectiva que es menos de 20 mg/kg de peso corporal, preferiblemente menos de 5 mg/kg y, en algunas ocasiones, menos de 1 mg/kg.

También se proporcionan en el presente documento métodos de modulación, preferiblemente reduciendo, la activación y/o actividad celular del $P2X_7$, tal como la actividad de transducción de señal (e.g., la conductancia del calcio). Tal modulación puede lograrse por el contacto de un $P2X_7$ (ya sea *in vitro* o *in vivo*) con uno o más moduladores proporcionados en el presente documento bajo condiciones apropiadas para fijar el (los) modulador (es) con el $P2X_7$. El (Los) modulador (es) está (n) generalmente presente(s) en una concentración que es suficiente para alterar la transducción de la señal mediada por el $P2X_7$ como se describe en el presente documento. El $P2X_7$ puede estar presente en solución o suspensión, en una preparación celular cultivada o aislada, o, en una célula dentro de un paciente. Por ejemplo, la célula puede ser contactada *in vivo* en un animal. La modulación de la actividad de transducción de la señal puede ser evaluada detectando el efecto sobre la conductancia del ión calcio (a la que se hace también referencia como la movilización o el flujo del calcio). La modulación de la actividad de transducción de la señal puede

alternativamente ser evaluada detectando una alteración o síntoma (e.g., dolor o inflamación) de un paciente que está siendo tratado con uno o más de los moduladores proporcionados en el presente documento.

El (Los) modulador (es) del $P2X_7$ proporcionado (s) en el presente documento es (son) administrado (s) preferiblemente a un paciente (e.g., un humano) oralmente o tópicamente, y está (n) presente (s) dentro de por lo menos un fluido corporal del animal mientras que modula la actividad transducción de señal del $P2X_7$.

La presente invención además provee métodos para tratar condiciones de que responden a la modulación del $P2X_7$. Dentro del contexto de la presente invención, el término "tratamiento" abarca tanto el tratamiento de modificación de la enfermedad como el tratamiento sintomático, cualquiera de los cuales puede ser profiláctico (e.g., antes del comienzo de los síntomas, con el objeto de prevenir, retrasar o reducir la severidad de los síntomas) o terapéutico (e.g., después del comienzo de los síntomas, con el objeto de reducir la severidad y/o duración de los síntomas). Una condición "responde a la modulación del $P2X_7$" *si se caracteriza por actividad inapropiada del* $P2X_7$, sin importar la cantidad de agonista del $P2X_7$ presente localmente, y/o si la modulación de la actividad del $P2X_7$ tiene como resultado el alivio de la condición o uno de sus síntomas. Tales condiciones incluyen, por ejemplo, dolor, inflamación, trastornos cardiovasculares, trastornos oculares, trastornos neurodegenerativos y trastornos respiratorios (tales como tos, asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, bronquitis

crónica, fibrosis quística y rinitis, incluyendo rinitis alérgica, tales como rinitis estacional y perenne, y rinitis no alérgica), fibrosis así como otras condiciones descritas en más detalle posteriormente. Tales condiciones pueden ser diagnosticadas y monitoreadas usando los criterios que han sido establecidos en la técnica. Los pacientes pueden incluir humanos, animales de compañía domesticados y ganado, con dosificaciones como se describió anteriormente.

Los regímenes de tratamiento pueden variar dependiendo del compuesto usado y la condición particular a ser tratada; sin embargo, para el tratamiento de la mayoría de trastornos, se prefiere una frecuencia de administración de 4 veces diarias o menos. En general, se prefiere más un régimen de dosificación de 2 veces diarias, con particular preferencia por una dosificación de una vez al día. Para el tratamiento del dolor agudo, es deseable una dosis única que alcance rápidamente las concentraciones efectivas. Se entenderá, sin embargo, que el nivel de la dosis específica y el régimen del tratamiento para cualquier paciente particular dependerá de una variedad de factores incluyendo la actividad del compuesto específico empleado, la edad, el peso corporal, la salud en general, el género, la dieta, el tiempo de administración, la vía de administración, y la tasa de excreción, la combinación de medicamentos y la severidad de la enfermedad particular sometida a terapia. En general, se prefiere el uso de la dosis mínima suficiente para proveer terapia efectiva. Generalmente los pacientes pueden ser monitoreados respecto a la efectividad terapéutica usando criterio médico o veterinario adecuado para

la condición que está siendo tratada o prevenida.

El dolor que puede ser tratado usando los moduladores proporcionados en el presente documento incluye, por ejemplo, dolor agudo, crónico, inflamatorio y neuropático. Las indicaciones para dolores específicos que pueden ser tratados como se describe en el presente documento incluyen, pero no están limitadas a, dolor asociado con osteoartritis o artritis reumatoidea; varios síndromes de dolor neuropático (tales como neuralgia pos-herpética, neuralgia del trigémino, distrofia simpática refleja, neuropatía diabética, síndrome Gillian Barre, fibromialgia, dolor neuropático oral, dolor de extremidad fantasma, dolor pos-mastectomía, neuropatía periférica, síndromes de dolor miofacial, neuropatía relacionada con MS, neuropatía relacionada con HIV o AIDS, neuropatía inducida por quimioterapia y otras neuropatías iatrogénicas); dolor visceral, (tal como aquel asociado con el trastorno de reflujo gastroesofágico (GERD), síndrome de intestino irritable, enfermedad inflamatoria intestinal, pancreatitis, gases intestinales, trastornos ginecológicos (e.g., dolor menstrual, dismenorrea, dolor asociado con cistitis, dolor de alumbramiento, dolor pélvico crónico, endometriosis, dolor cardíaco y dolor abdominal), y prostatitis crónica y trastornos urológicos); dolor dental (e.g., dolor del diente, dolor de la dentadura, dolor de la raíz del nervio, dolor resultante de la enfermedad periodontal, y dolor debido a una cirugía dental incluyendo dolor operatorio y pos-operatorio); cefalea (e.g., cefaleas que involucran la actividad del nervio periférico, cefalea por sinusitis, cefalea

clúster (*i.e.*, neuralgia migrañosa) cefalea tensional, migraña, dolor tempomandibular y dolor de senos maxilares); dolor de muñón; meralgia parestésica, síndrome de boca quemada; dolor asociado con daño del nervio y la raíz, incluyendo como dolor asociado con trastornos del nervio periférico (e.g., extirpación del plexo braquial y atrapamiento nervioso, amputación, neuropatías periféricas incluyendo la neuropatía periférica bilateral, tic doloroso, dolor facial atípico, daño de la raíz del nervio, y aracnoiditis), causalgia, neuritis (incluyendo por ejemplo, neuritis ciática, neuritis periférica, polineuritis, neuritis óptica, neuritis posfebril, neuritis migratoria, neuritis segmental y neuritis de Gombault), neuritis, neuralgias (e.g., aquellas mencionadas anteriormente, neuralgia cervicobraquial, neuralgia craneal, neuralgia geniculada, neuralgia glosofaríngea, neuralgia migrañosa, neuralgia idiopática, neuralgia intercostal, neuralgia mamaria, neuralgia de articulación mandibular, neuralgia de Morton, neuralgia nasociliar, neuralgia occipital, neuralgia roja, neuralgia de Sluder, neuralgia esplenopalatina, neuralgia supraorbital y neuralgia vidiana); dolor relacionado con cirugía; dolor musculoesquelético, dolor del sistema nervioso central (e.g., dolor debido a deterioro del tallo cerebral, ciática, y espondilitis anquilosante); y dolor espinal, incluyendo dolor relacionado con daño de la médula espinal.

Adicionalmente, los tipos de dolor que pueden ser tratados como se describe en el presente documento incluyen: Dolor de Charcot, dolor de oído, dolor muscular, dolor ocular, dolor orofacial(e.g., odontalgia), síndrome de túnel carpiano, dolor

intenso y crónico de espalda (e.g., dolor de la parte baja de la espalda), gota, dolor en cicatriz, dolor hemorroidal, dolores dispépticos, angina, dolor de raíz del nervio, neuropatías "no dolorosas", síndrome de dolor regional complejo, dolor homotópico y dolor heterotópico incluyendo dolor asociado con carcinoma, a menudo referido como dolor asociado al cáncer (e.g., en pacientes con cáncer óseo), dolor (e inflamación) asociado con exposición a veneno (e.g., debido a mordedura de serpiente, mordedura de araña, o picadura de insecto) y dolor asociado a trauma (e.g., dolor pos-quirúrgico, dolor por episiotomía, dolor por cortaduras, dolor musculoesquelético, magulladuras y huesos rotos, y dolor por quemaduras, especialmente hiperalgesia primaria asociada con esto). Condiciones adicionales de dolor que pueden ser tratadas como se describe en el presente documento incluyen dolor asociado con enfermedades autoinmunes o trastornos de inmunodeficiencia, oleadas de calor, quemaduras, quemaduras de sol, y el dolor que resulta de exposición al calor, frío o estimulación química externa.

Condiciones asociadas con inflamación y/o trastornos del sistema inmune que pueden ser tratadas usando los moduladores proporcionados en el presente documento incluyen, pero no están limitados a, artritis (incluyendo osteoartritis, artritis reumatoidea, artritis psoriásica, síndrome de Reiter, gota, artritis traumática, artritis por rubéola, espondilitis reumatoidea, artritis gotosa y artritis juvenil); fibrosis quística; uveitis; lupus eritematoso sistémico (y glomerulonefritis asociada); espondiloartropatías; psoriasis;

esclerosis; condiciones alérgicas (incluyendo reacciones alérgicas, rinitis alérgica, hipersensibilidad alérgica de contacto, dermatitis alérgica, eccema y dermatitis por contacto), lesión de reperfusión (e.g., lesión de reperfusión renal y cardíaca), trastornos del sistema respiratorio (incluyendo híper-reactividad de la vía respiratoria, tos, asma (e.g., para prevenir o reducir la severidad tanto del ataque de asma agudo inicial como de las reacciones de la última fase que siguen a dicho ataque de asma; incluyendo bronquial, alérgica, intrínseca, extrínseca, inducida por el ejercicio, inducida por medicamentos (e.g., aspirina o inducida por NSAID) y asma inducida por el polvo), enfermedad reactiva de vías respiratorias, enfisema, síndrome de ansiedad respiratoria (adulta) aguda (ARDS), bronquitis (e.g., bronquitis infecciosa y eosinófilica), bronquiectasias, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), enfermedad pulmonar inflamatoria crónica, silicosis, sarcoidosis pulmonar, pulmón de agricultor, neumonitis por hipersensibilidad y fibrosis pulmonar), infección viral, infección por hongos, infección bacteriana, enfermedad de Crohn, glomerulornefritis, infección VIH y SIDA, síndrome de intestino irritable, enfermedad inflamatoria intestinal, dermatomiositis, esclerosis múltiple, pénfigo, penfigoides, esclerodermia, miastenia gravis, estados hemolítico y trombocitopénico autoinmunes, síndrome de Goodpasture (y glomerulonefritis y hemorragia pulmonar asociadas), rechazo de injerto de tejido, rechazo hiperagudo de órganos transplantados, rechazo de homoinjerto, toxicidad por transplante de órgano, neutropenia, sepsis, choque séptico,

choque endotóxico, choque conjuntivo, síndrome de choque tóxico, enfermedad de Alzheimer, inflamación asociada con quemaduras severas, lesión pulmonar, síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS en inglés), enfermedad inflamatoria multisistémica neonatal (NOMID), tiroiditis de Hashimoto, enfermedad de Grave, enfermedad de Addison, púrpura trombocitopénica idiopática, fascitis eosinofílica, síndrome hiper-IgE (síndrome de Job-Buckley), síndrome antifosfolípido, lepra, síndrome de Sezary, síndromes paraneoplásticos, síndrome Muckle-Wells, *lichen planus*, síndrome de resfriado autoinflamatorio doméstico (FCAS), colitis, ruptura de aneurisma aórtico abdominal y síndrome de disfunción orgánica múltiple (MODS). También están incluidas secuelas patológicas asociadas con diabetes mellitus insulino-dependientes (incluye retinopatía diabética), nefropatía por lupus, nefritis de Heyman, nefritis membranosa y otras formas de glomerulonefritis, degeneración macular, respuesta sensitiva de contacto, e inflamación resultante del contacto de sangre con superficies sintéticas como ocurre, por ejemplo, durante circulación extracorpórea (e.g., durante hemodiálisis o vía máquina corazón-pulmón, por ejemplo, en asociación con cirugía vascular tal como bypass coronario o reemplazo de válvula cardíaca) tal como síndrome post-diálisis extracorpórea o en relación con contacto con otros vasos sanguíneos artificiales o superficies de contenedores (e.g., dispositivos de asistente ventricular, máquinas de corazón artificial, venoclisis para transfusión, bolsas para almacenamiento de sangre, plasmaféresis, plaquetoféresis, y similares).

Condiciones adicionales que aún pueden ser tratadas usando los moduladores proporcionados en el presente documento incluyen:

Trastornos cardiovasculares, tales como enfermedad cardiovascular, infarto, isquemia cerebral, infarto de miocardio, ateroesclerosis, enfermedad isquémica cardiaca, lesión por isquemia-reperfusión, aneurisma aórtico, y falla cardiaca congestiva;

Desordenes oculares tales como glaucoma;

Desordenes neurológicos (e.g., neurodegeneración), tales como condiciones neurodegenerativas asociadas con trastornos progresivos del sistema nervioso central, CNS, incluyendo, pero no limitado a, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, esclerosis lateral amiotrófica, enfermedad de Huntington, enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, demencia con cuerpos de Lewy, lesión traumática cerebral, lesión de médula espinal, neurotrauma, angiopatía amiloidea cerebral, y encefalitis; epilepsia y trastornos convulsivos; esclerosis múltiple y otros síndromes de desmielinización; ateriosclerosis cerebral; vasculitis; arteritis temporal; miastenia gravis; neurosarcoidosis; y complicaciones de los procesos malignos, autoinmunes o infecciosos del sistema nervioso periférico y central ; los moduladores proporcionados en el presente documento también pueden ser usados para propiciar neuroregeneración;

Trastornos neuropsiquiátricos de mediación central, tales como depresión, manía depresiva, enfermedad bipolar, ansiedad, esquizofrenia, trastornos alimenticios, trastornos de sueño y

trastornos cognitivos; y

Otros trastornos, tales como cirrosis, fibrosis intersticial, disfunción prostática, intestinal y vesical (e.g., incontinencia urinaria, dificultad urinaria, hipersensibilidad rectal, incontinencia fecal e hipertrofia prostática benigna); comezón/prurito; obesidad; trastornos lipídicos; cáncer, hipertensión, trastornos renales; cicatrización anormal; leucemia mioblástica; diabetes; meningitis; venas varicosas; degeneración muscular; caquexia; restenosis; trombosis; malaria cerebral; trastornos óseos y articulares (e.g., osteoporosis, enfermedad de resorción ósea, desprendimiento de implantes artificiales en articulaciones, y otros anotados anteriormente); epidermólisis bulosa; angiogénesis ocular; lesión corneal; cicatrización corneal; y ulceración de tejido.

Los moduladores proporcionados en el presente documento pueden también ser usados para neuroprotección del nervio óptico (e.g., para inhibir la muerte de las células del ganglio retinal en un paciente).

Entre otros aspectos, los moduladores proporcionados en el presente documento pueden ser usados entre la terapia combinada para el tratamiento de condiciones que responden a la modulación del $P2X_7$ (e.g., condiciones que implican dolor y/o componentes inflamatorios). Tales condiciones incluyen, por ejemplo, trastornos autoinmunes y respuesta autoinmune patológica conocida por incluir componente inflamatorio, pero no limitado a, artritis (especialmente artritis reumatoide), psoriasis, enfermedad de Crohn, lupus eritematoso, síndrome de

intestino irritable, rechazo a injerto de tejido, y rechazo hiperagudo de órganos transplantados. Otras condiciones por el estilo incluyen trauma (e.g., lesión a la cabeza o medula espinal), enfermedad cardio y cerebro-vascular y ciertas enfermedades infecciosas.

Dentro de tal terapia combinada, un modulador es administrado a un paciente junto con un segundo agente terapéutico (e.g., un agente analgésico y/o anti-inflamatorio). El modulador y el segundo agente terapéutico pueden estar presentes en la misma composición farmacéutica, o pueden ser administrados separadamente en cualquier orden. Agentes anti-inflamatorios incluyen, por ejemplo, drogas anti-inflamatorias no-esteroidales (NSAIDs), no-específicas e inhibidoras de enzima de ciclooxigenasa específica ciclooxigenasa-2 (COX-2), compuestos de oro, corticosteroides, metotrexato, leflunomida, ciclosporina A, IM áureo, minociclina, azatioprina, antagonistas de receptores del factor de necrosis tumoral (TNF), receptor alfa TNF soluble (etanercept), anticuerpos alfa anti-TNF (e.g., infliximab y adalimumab), anticuerpos anti-C5, antagonistas receptores de interleucina-1 (IL-1) (e.g., anakinra o colector IL-1), proteína fijadora IL-18, CTLA4-Ig (e.g., abatacept), anticuerpo monoclonal receptor del IL-6 anti-humano (e.g., tocilizumab), proteínas fusión LFA-3-Ig (e.g.,alefacept), antagonistas LFA-1, monoanticuerpo anti-VLA4 (e.g., natalizumab), anticuerpo monoclonal anti-CD11a, anticuerpo monoclonal anti-CD20 (e.g.,rituximab), anticuerpo monoclonal anti-IL-12, anticuerpo monoclonal anti-IL-15,CDP 484, CDP 870, antagonistas receptores de quimiocina,

inhibidores iNOS selectivos, inhibidores cinasa p38, antagonistas integrin, inhibidores de angiogénesis, e inhibidores dual TMI-1. Adicionalmente agentes anti-inflamatorios incluyen meloxicam, rofecoxib, celecoxib, etoricoxib, parecoxib, valdecoxib y tilicoxib.

Los NSAIDs incluyen, pero no están limitados a, ibuprofeno, flurbiprofeno, naproxeno o naproxeno, diclofenaco sódico, combinaciones de diclofenaco sódico y misoprostol, sulindac, oxaprozina, diflunisal, piroxicam, indometacina, etodolac, fenoprofeno cálcico, quetoprofeno, nabumetona sódica, sulfasalazina, sodio tolmetina, e hidroxicloroquina. Una clase de NSAIDs consiste de compuestos que inhiben las encimas ciclooxigenasa (COX); tales compuestos incluyen celecoxib y rofecoxib. Adicionalmente los NSAIDs incluyen salicilatos tales como ácido acetilsalicílico o aspirina, salicilato de sodio, salicilatos de colina y magnesio, y salsalato, así como también corticosteroides tales como cortisona, dexametasona, metilprednisolona, prednisolona, fosfato de sodio de prednisolona, y prednisona.

Las dosificaciones apropiadas para el modulador del $P2X_7$ en la terapia combinada son generalmente como se describió anteriormente. Las dosificaciones y los métodos de administración de agentes anti-inflamatorios pueden ser encontrados, por ejemplo, en las instrucciones del fabricante en Physician's Desk Reference. En ciertas modalidades, la administración combinada de un modulador con un agente anti-inflamatorio resulta en una reducción de la dosificación del agente anti-inflamatorio requerido para producir un efecto

terapéutico (i.e., una disminución en la cantidad mínima terapéuticamente efectiva). De este modo, preferiblemente, la dosificación del agente anti-inflamatorio en una combinación o un método de tratamiento combinado es menor que la dosis máxima aconsejada por el fabricante para la administración del agente anti-inflamatorio sin la administración combinada de un modulador. Preferiblemente esta dosificación es menor que ¾ aún más preferiblemente menor de ½, y altamente preferible menor que ¼ de la dosis máxima, mientras lo más preferible es que la dosis sea menor que el 10% de la dosis máxima aconsejada por el fabricante para la administración del(de los) agente(s) anti-inflamatorio(s) cuando es administrado sin la administración combinada de un modulador. Será claro que la cantidad de dosificación del componente modulador de la combinación necesitada para lograr el efecto deseado puede similarmente ser reducida por la co-administración del agente anti-inflamatorio.

En ciertas modalidades preferidas, la administración combinada de un modulador con un agente anti-inflamatorio es lograda empacando uno o más moduladores y uno o más agentes anti-inflamatorios en el mismo paquete, ya sea en contenedores separados entre el empaque o en el mismo contenido como una mezcla de uno o más moduladores y uno o más agentes anti-inflamatorios. Las mezclas preferidas son formuladas para administración oral (e.g., como pastillas, cápsulas, tabletas o similares). En ciertas modalidades, el empaque contiene una etiqueta con señales indicando que uno o más moduladores y uno o más agentes anti-inflamatorios están para ser tomados juntos

240

para el tratamiento de una condición de dolor de inflamación.

Dentro de aspectos adicionales, los moduladores proporcionados en el presente documento pueden ser usados en combinación con uno o más medicamentos adicionales para aliviar el dolor. Algunos de tales medicamentos también son agentes anti-inflamatorios, y están relacionados anteriormente. Otros medicamentos de ese tipo son agentes analgésicos, inclusive agentes narcóticos que típicamente actúan en uno o más subtipos receptores opioides (e.g., μ, κ y/o δ), preferiblemente como agonistas o agonistas parciales. Tales agentes incluyen opiáceos, opioide y derivados opiáceos, así como también sales aceptables farmacéuticamente e hidratos de éstas mismas. Ejemplos específicos de analgésicos narcóticos incluyen, entre modalidades preferidas, alfentanilo, alfaprodina, anileridina, bezitramida, buprenorfina, butorfanol, codeína, diacetildihidromorfina, diacetilmorfina, dihidrocodeína, difenoxilato, etilmorfina, fentanilo, heroína, hidrocodona, hidromorfona, isometadona, levometorfan, levorfana, levorfanol, meperidina, metazocina, metadona, metorfan, metopona, morfina, nalbufina, extractos de opio, extractos fluidos de opio, opio en polvo, opio granulado, opio al natural, tintura de opio, oxicodona, oximorfona, paregórico, pentazocina, petidina, fenazocina, piminodina, propoxifeno, racemetorfan, racemorfan, sulfentanil, tebaína y sales e hidratos, de los anteriores agentes, farmacéuticamente aceptables.

Otros ejemplos de agentes analgésicos narcóticos incluyen acetorfina, acetildihidrocodeína, acetilmetadol, alilprodina,

241

alfracetilmetadol, alfameprodina, alfametadol, benzetidina, benzilmorfina, betacetilmetadol, betameprodina, betametadol, betaprodina, clonitazeno, metilbromida codeína, oxido-N-codeína, ciprenorfina, desomorfina, dextromoramida, diampromida, dietiltiambuteno, dihidromorfina, dimenoxadol, dimefeptanol, dimetiltiamubuteno, butirato dioxafetilo, dipipanona, drotebanol, etanol, etilmetiltiambuteno, etonitazeno, etorfina, etoxeridina, furetidina, hidromorfinol, hidroxipetidina, cetobemidona, levomoramida, levofenacilmorfan, metildesorfina, metildihidromorfina, morferidina, morfina, metilpromida, metilsulfonato de morfina, óxido-N-morfina, mirofina, naloxona, naltihexona, nicocodeína, nicomorfina, noracimetadol, norlevorfanol, normetadona, normorfina, norpipanona, pentazocaína, fenadoxona, fenampromida, fenomorfan, fenoperidina, piritramida, folcodina, proheptazoina, properidina, propiran, racemoramida, tebacón, trimeperidina y las sales e hidratos, de las mismas, farmacéuticamente aceptables.

Adicionalmente agentes analgésicos representativos específicos incluyen, por ejemplo acetaminofen (paracetamol); aspirina y otros NSAIDs descritos anteriormente; antagonistas NR2B; antagonistas de bradiquinina; agentes anti-migraña; anticonvulsionantes tales como oxcarbazepina y carbamazepina; antidepresivos (tales como TCAs, SSRIs, SNRIs, antagonistas de la sustancia P, etc.); bloqueo medular; pentazocina/naloxona; meperidina; levorfanol; buprenorfina; hidromorfona; fentanilo; sufentanilo; oxicodona; oxicodona/acetaminofen, nalbufina y oximorfona. No obstante los agentes analgésicos adicionales

242

incluyen agonistas del receptor-CB2, tales como AM1241, antagonistas del receptor capsaicina y compuestos que enlazan a la subunidad α2δ de los canales de calcio con control de voltaje, tales como gabapentina y pregabalina.

Agentes anti-migraña representativos para uso en combinación con un modulador proporcionado en el presente documento incluyen antagonistas CGRP, antagonistas del receptor capsaicina, ergotaminas y agonistas del 5-HT1, tales como sumatriptan, naratriptan, zolmatriptan y rizatriptan.

Dentro de los aspectos adicionales, los moduladores proporcionados en el presente documento pueden ser usados, por ejemplo, en el tratamiento de trastornos pulmonares tales como asma, en combinación con uno o más agonistas del receptor beta(2)-adrenérgico o antagonistas del receptor leucotrieno (e.g., agentes que inhiben al receptor $CisLT_1$ cisteinil leucotrieno). Los antagonistas del $CisLT_1$ incluyen montelucast, zafirlucast, y pranlucast.

Para neuroprotección retinal y tratamiento de trastornos oculares, moduladores del $P2X_7$ pueden ser administrados en el ojo en combinación con, por ejemplo, uno o más de un agente que inhibe la liberación de ATP, un agente que incrementa la conversión de ATP a adenosina y/o un agente que inhibe la entrada de Ca^{+2} entre las células ganglio retinales. Tales agentes incluyen, por ejemplo, agonistas del receptor de adenosina A_3, agonistas del receptor de adenosina A_1, agonistas de la ectonucleotidasa, agentes queladores de Ca^{+2} y antagonistas del receptor de NMDA.

Las dosificaciones adecuadas para el modulador del $P2X_7$ dentro de tal terapia combinada son generalmente como se describió anteriormente. Dosificaciones y métodos de administración de otros medicamentos para aliviar el dolor pueden ser encontrados, por ejemplo, en las instrucciones de los fabricantes en *Physician´s Desk Reference*. En ciertas modalidades, la administración combinada de un modulador con uno o más medicamentos adicionales para el dolor tiene como resultado una reducción de la dosificación de cada agente terapéutico requerido para producir un efecto terapéutico (e.g., la dosificación de uno o ambos agentes puede ser menor que ¾, menor que ½, menor que ¼, o menos que el 10% de la dosis máxima registrada anteriormente o sugerida por el fabricante).

Para el uso en terapia combinada, las composiciones farmacéuticas, como se describió anteriormente, pueden además comprender uno o más medicamentos adicionales, como se describió anteriormente. En algunas de tales composiciones, el medicamento adicional es un analgésico. También se proporcionan en el presente documento las preparaciones farmacéuticas empaquetadas que comprenden uno o más moduladores y uno o más medicamentos adicionales (e.g., analgésicos) en el mismo paquete. Tales preparaciones farmacéuticas empaquetadas generalmente incluyen (i) un recipiente que contiene una composición farmacéutica que consta al menos un modulador como está descrito en el presente documento; (ii) un recipiente que contiene una composición farmacéutica que incluye al menos un medicamento adicional (tal como un aliviador del dolor y/o medicamento anti-inflamatorio), como está descrito

anteriormente y (iii) instrucciones (e.g., en etiqueta o en inserto en el paquete) indicando que las composiciones deben ser usadas simultáneamente, separada o secuencialmente, para tratar o prevenir una condición que responde a la modulación del $P2X_7$ en el paciente (tal como una condición en que predomina el dolor y/o la inflamación).

Dentro de aspectos separados, la presente invención provee una variedad de usos no farmacéuticos *in vitro* e *in vivo* para el compuesto modulador proporcionado en el presente documento. Por ejemplo, tales compuestos pueden ser marcados y usados como sondas para la detección y localización del $P2X_7$ (en muestras tales como preparados de células o secciones de tejido, preparados o fracciones de los mismos). Además, los moduladores proporcionados en el presente documento que incluyen un grupo reactivo idóneo (tal como los grupos aril carbonilo, nitro o azida) pueden ser usados en estudios de identificación por fotoafinidad de sitios de fijación al receptor. Además, los moduladores proporcionados en el presente documento pueden ser usados como controles positivos en ensayos para actividad de los receptores o como radiotrazadores (e.g., en procedimientos de mapeo del receptor). Por ejemplo, un compuesto modulador puede marcarse usando cualquiera de una variedad de técnicas bien conocidas (e.g., radioetiquetado con un radionúclido tal como tritio, como está descrito en el presente documento), y usado como sonda para autoradiografía del receptor (mapeo del receptor) $P2X_7$ en células cultivadas o muestras de tejido, lo cual puede ejecutarse como lo describe Kuhar en las secciones 8.1.1 a 8.1.9 de Current Protocols in Pharmacology (1998) John

245

Wiley & Sons, New York, cuyas secciones están incorporadas en el presente documento por referencia. Tales procedimientos de mapeo de receptores también incluyen métodos que pueden ser usados para caracterizar el $P2X_7$ en sujetos vivientes, tales como imágenes de tomografía por emisión de positrones (PET) o tomografía computarizada de emisión de fotón único (uno por uno) (SPECT).

Los siguientes ejemplos son ofrecidos a propósito de ilustración y no a propósito de limitación. A menos que se especifique de otra manera, todos los reactivos y solventes descritos son de calidad comercial estándar y se usan sin purificación adicional. Usando modificaciones de rutina, las materias primas pueden ser cambiadas y emplearse medidas adicionales para producir otros compuestos proporcionados en el presente documento.

EJEMPLOS

Los datos de espectroscopia de masas (MS) proporcionados en el presente documento son de (MS) por Electroatomización, obtenidos en el modo ión positivo. A menos que se especifique lo contrario, tales datos se han obtenido usando un Micromass Time-of-flight LCT (Waters Corp.; Milford, MA), equipado con una bomba Waters 600 (Waters Corp.), un detector de conjunto de fotodiodos Waters 996 (Waters Corp.), y un automuestreador Gilson 215 (Gilson, Inc.; Middleton, WI). Software MassLynx™ (Waters Corp.) versión 4,0 con OpenLynx Global Server™; los procesadores OpenLyxs™ y AutoLynx™ se usan para recopilación y análisis de datos. Las condiciones para MS son como sigue:

voltaje del vaso capilar = 3,5 kV; voltaje de cono = 30 V, temperatura de desolvación y de la fuente = 350°C y 120°C, respectivamente; rango de masas = 181-750 con un tiempo de barrido de 0,22 segundos y un retraso entre barridos de 0,05 segundos.

Para los datos marcados con "§", los datos de espectroscopia de masas se obtienen usando un Espectrómetro de Masas Waters ZMD II (Waters Corp.), equipado con una bomba Waters 600 (Waters Corp.), detector de conjunto de fotodiodo Waters 996 (Waters Corp.), y un automuestreador Gilson 215 (Gislon, Inc.; Middleton, WI). Software MassLynx™ (Waters Corp.) versión 4.0 con OpenLynx Global Server™, los procesadores OpenLyxs™ y amiento AutoLynx™ se usan para la recopilación y análisis de los datos. Las condiciones para MS son como sigue: voltaje del vaso capilar = 3,5 kV; voltaje de cono = 30 V, temperatura de desolvación y de la fuente = 250°C y 100°C, respectivamente; rango de masa = 100-800 con un tiempo de barrido de 0,5 segundos y un retraso entre barridos de 0,1 segundos.

Para cualquier método, el volumen de muestra de un 1 microlitro se inyecta adentro de una columna de Chromolith SpeedROD RP-18e (Merck KGaA, Darmstadt, Germany), y se eluye usando un gradiente lineal de 2 fases a una tasa de flujo de 6 ml/min. La muestra se detecta usando un conteo de absorbancia total en el rango UV de 220-340nm. Las condiciones de elución son: Fase Móvil A - 95% de agua, 5% de MeOH con TFA al 0,05%; Fase Móvil B - 5% de agua, 95% de MeOH con TFA al 0,025%. Se usa el siguiente gradiente: 0-0,5 min 10-100%B, mantenido a

247

100%B en 1,2 min, retorno a 10%B en 1,21 min. El ciclo de inyección a inyección es 2,15 min.

Donde está indicado, los períodos de retención (R_T) son suministrados en minutos.

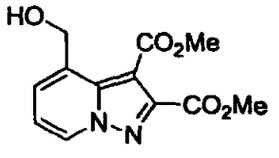
EJEMPLO 1

Preparación de Análogos Representativos de Amidas Heteroarílicas

Este ejemplo ilustra la preparación de análogos representativos de amidas heteroarílicas de Fórmula I, como también de ciertos intermedios útiles en la preparación de tales compuestos. La IC_{50} del $P2X_7$, determinada como se describe en el Ejemplo 4A, es 2 micromolar o menos para los Compuestos 1-15.

A. ÉSTER ETÍLICO DEL ÁCIDO 4-[(ADAMANTAN-1-ILMETIL) CARBAMOIL]PIRAZOL[1,5-A]PIRIDIN-2-CARBOXÍLICO (COMPUESTO 1)

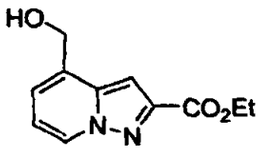
Paso 1. Éster dimetílico del ácido 4 Hidroximetilpirazol[1,5-a]piridin-2,3-dicarboxílico



Una solución de *O*-mesitilenesulfonilhidroxilamina, ~30-35%, en agua (14,5 g, 52 mmol) y CH_2Cl_2 (100 ml) se añade a una solución de 3-piridilcarbinol (5,0 ml,52 mmol)y CH_2Cl_2 (100 ml) a 0°C gota a gota durante 40 min. Después de 30 min a 0°C, el baño de hielo se remueve y la solución se agita a temperatura ambiente por 20 min. Los volátiles se remueven bajo presión

reducida para dar N-amino-3- hidroximetilpiridinio mesitil sulfonato como un aceite amarillo. Se adicionan DMF (100 ml) y K_2CO_3 (15 g,110 mmol). La mezcla marrón oscuro se enfría en baño de agua. Se adicionan (6,9 ml, 56 mmol) de dimetil acetilendicarboxilato gota a gota durante 10 min. Después de 15 min, el baño de agua es removido y la mezcla se deja en agitación vigorosa al aire por 18 h. Después de filtrar por medio de Celita (lavado con CH_2Cl_2), los volátiles se remueven bajo presión reducida. Se suspende el residuo en EtOAc y se filtra la mezcla por medio de Celita (lavado con EtOAc). Los volátiles se remueven bajo presión reducida para dar un aceite marrón oscuro. La purificación por cromatografía de columna flash (hexanos:EtOAc 2:1 a hexanos:EtOAc 1:1) da el compuesto del título como un sólido amarillo claro. LC-MS m/z ($M + Na^+$): 287,08[§].

Paso 2. Éster etílico del ácido 4-Hidroximetilpirazol[1,5-a]piridin-2-carboxílico



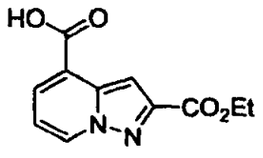
H_2SO_4 (400 ml) en solución acuosa al 50% se adiciona a (11,6 g, 43,9 mmol) de éster dimetílico del ácido 4- hidroximetilpirazol [1,5-a]piridin-2-3-dicarboxílico al aire. La mezcla se calienta a 80°C. Después de 3,5 h, la solución se transfiere a un matraz de 2 l y se enfría a 0°C. La solución se neutraliza con NaOH ac. 10 N. La suspensión resultante se acidifica a pH 3 con HCl ac. 1 M. Se remueven los volátiles bajo presión reducida. Se

249

lava el residuo con EtOH al 30% en CH_2Cl_2. Se remueven los volátiles bajo presión reducida para dar el compuesto del título como un sólido de color canela. LC-MS *m/z*(M + H^+): 193,07.

Se adiciona cloruro acetilo (9,5 ml, 130 mmol) a etanol absoluto (200 ml). Después de 30 min, la solución se vierte en un matraz que contiene ácido 4-hidroximetilpirazol[1,5-a]piridin-2-carboxílico. Se calienta la mezcla a 50°C por 3,5 h. Después de enfriarse a t.a., la mezcla se hace básica con la adición de $NaHCO_3$ ac. sat. gota a gota. Se remueven los volátiles bajo presión reducida. Se extrae la solución acuosa con EtOAc. Se secan los orgánicos sobre Na_2SO_4, se filtran, y se concentran para dar el compuesto del título como un polvo de color canela. LC-MS m/z(M+Na^+): 242,98[§].

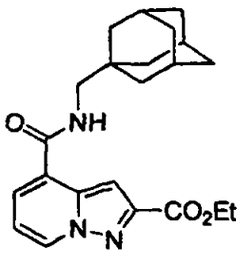
Paso 3. 2-etíl éster del ácido pirazol[1,5-a]piridin-2-4-dicarboxílico



Una solución 2,65 M del reactivo de Jones (28 ml) se adiciona gota a gota durante 40 min a una solución de éster etílico del ácido 4-hidroximetilpirazol[1,5-a]piridin-2-carboxílico (5,30 g, 24,1 mmol) y acetona (240 ml) en aire enfriado por un baño de agua. Después de 20 min, se adiciona isopropanol (3mL) gota a gota. Después de agitar por 30 min, la mezcla azul-verdosa se filtra (se lava con acetona). Los orgánicos se concentran bajo presión reducida. El residuo se

disuelve en agua. Se adiciona Et_2O y la mezcla se agita por 15 min. El sólido resultante se recoge por filtración. El filtrado se seca para dar el compuesto del título como un sólido de color canela. LC-MS *m/z*(M+Na^+): 257,02[§].

Paso4. Éster etílico del ácido 4-[(Adamantan-1-ilmetil) carbamoil]pirazol[1,5-a]piridin-2-carboxílico



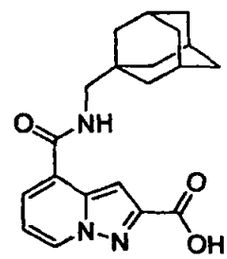
Compuesto 1

Se adiciona BOP (11 g,24 mmol) a una suspensión de éster 2-etílico del ácido pirazol[1,5-a]piridin-2,4-dicarboxílico (5,6g,24mmol), adamantan-1-ilmetilamina (4,4g,27mmol), iPr_2NEt (21 ml, 120 mmol), y DMF (240 ml) bajo N_2. El recipiente de la reacción se sella y la mezcla se deja en agitación por 15 h. Se adiciona EtOAc (200 ml). Se lava la solución con NH_4Cl ac. sat. Al 50% (2 x 500mL). Se extraen las fases acuosas con EtOAc (3 x 200mL). Los orgánicos combinados se secan sobre Na_2SO_4, se filtran y se concentran. La purificación por cromatografía de columna flash (hexanos:EtOAc 2:1 a hexanos:EtOAc 1:1) da el compuesto del título como un sólido color canela. ^1H NMR(400MHz, $CDCl_3$)δ: 8,62(d, 1H),7,60 (d, 1H), 7,44 (s, 1H), 7,00 (t, 1H), 6,23 (bs, 1H), 4,48 (q, 2H), 3,23 (d, 2H), 1,98-2,07 (m, 3H), 1,57-1,78(m, 12H), 1,45(t, 3H). LC-MS *m/z*(M+N^+): 382,2;R_T=1,09 min.

257

B. N-(ADAMANTAN-1-ILMETIL)-2-{[(3R)-3-AMINOPIRROLIDIN-1-IL]CARBONIL}PIRAZOL[1,5-A]PIRIDIN-4-CARBOXAMIDA (COMPUESTO 2)

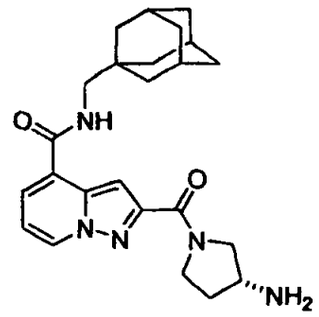
Paso 1. Ácido 4-[(adamantan-1-ilmetil)carbamoil]pirazol[1,5-a]piridin-2-carboxílico



Se adiciona KOH acuoso 3M (2,6 ml) a una mezcla de éster etílico del acido 4-[(adamantan-1-ilmetil)carbamoil]-pirazol [1,5-a]piridin-2-carboxílico (503 mg, 1,32 mmol) y EtOH (6,6 ml). Después de 4 h, los volátiles se remueven bajo presión reducida. Se diluye el residuo acuoso con agua (2mL) y luego se acidula con HCl ac. 1 M a ~pH2. Se recogen los sólidos por filtración y luego se secan para dar el compuesto del título como un polvo amarillo claro. ^{1}H NMR(400MHz, $((CD_3)_2SO)$ δ:8,86(d, 1H), 8,50 (t, 1H), 7,71 (d, 1H), 7,26 (s, 1H), 7,12 (t, 1H), 3,00 (d, 2H), 1,88-1,98(m, 3H), 1,48-1,69(m, 12H). LC-MS *m/z* ($M+H^+$):354,09.

Paso 2. N-(adamantan-1-ilmetil)-2-{[(3R)-3-aminopirrolidin-1-il]carbonil}pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida

252



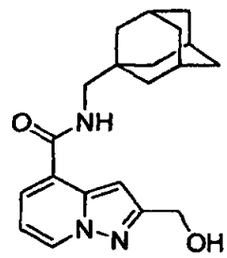
Compuesto 2

Se adiciona BOP (680 mg, 1,5 mmol) a una mezcla de ácido 4-[(adamantan-1-ilmetil)carbamoil]-pirazol[1,5-a]piridin-2-carboxílico (417 mg, 1,18 mmol), *tert*-butil (R)-pirrolidin-3-ilcarbamato (242 mg, 1,30 mmol), iPr_2Net (620µL, 3,6 mmol) y DMF (12 ml) bajo N_2. El recipiente de la reacción se sella y la solución se agita por 20 h. Se adiciona EtOAc (50 ml). La solución se lava con H_2O (2 x 50 ml) y salmuera (50 ml). Se secan los orgánicos sobre Na_2SO_4, se filtran y se concentran. La purificación por cromatografía de columna flash (MeOH al 2% en CH_2Cl_2) da éster *tert*-butílico del ácido (R)-(1-{4-[(adamantan-1-ilmetil)carbamoil]pirazol[1,5-a]-piridin-2-carbonil}pirrolidin-3-il)carbámico como un sólido color canela. Se adicionan MeOH (6,8 ml) y HCl 4 M en dioxano (1,7 ml). Después de 20 h, los volátiles se remueven bajo presión reducida para dar un sólido color canela claro. Se añade K_2CO_3 acuoso al 15% (50 ml). Se extrae la solución con EtOAc (5 x 50 ml). Se secan los orgánicos combinados sobre Na_2SO_4, se filtran y se concentran. La purificación por cromatografía de columna flash (NH_4OH al 1% en CH_2Cl_2:MeOH 9:1) da el compuesto del título como una espuma de color canela. ^1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ:8,48 (ddd, 1H), 7,62 (dd, 1H), 7,22 (dd, 1H), 6,87 (t, 1H), 6,50

253

(bt, 1H), 3,42-4,20(m, 5H), 3,20 (d, 2H), 2,14 (septet, 1H), 1,96-2,04(m, 3H), 1,55-1,88(m, 12H). LC-MS *m/z*($M+N^+$): 422,3; R_T=1,2 min.

C. N-(ADAMANTAN-1-ILMETIL)-2-(HIDROXIMETIL)PIRAZOL[1,5-A] PIRIDIN-4-CARBOXAMIDA(COMPUESTO 3)



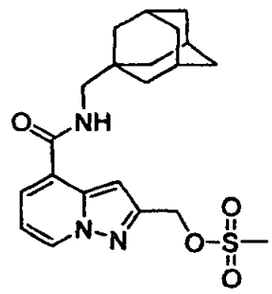
Compuesto 3

Una solución 2,0 M de $LiBH_4$ en THF (5,8 ml) se adiciona gota a gota a una solución de éster etílico de ácido 4-[(adamantan-1-ilmetil)carbamoil]pirazol[1,5-a]piridin-2-carboxílico (2,01 g, 5,27 mmol) y THF(50 ml) a 0°C bajo N_2. Después de 10 minutos se remueve el baño de hielo. Después de 3 h, se agrega solución 2,0 M de LiBH4 en THF adicional, (2,0 ml). Después de 4 h, se agrega NH_4Cl ac. sat. gota a gota. Se remueven los volátiles bajo presión reducida. Se adiciona H_2O (20 ml) y los sólidos se recogen por filtración. Se suspenden los sólidos en MeOH (75mL) y se calientan a 50°C por 4 h. Se remueven los volátiles bajo presión reducida para dar el compuesto del título como un sólido color canela claro. ^1H NMR (300MHz, $CDCl_3$)δ: 8,58 (ddd, 1H), 7,56 (dd, 1H), 6,92 (t, 1H), 6,90 (s, 1H), 4,80 (s, 2H), 3,12 (s, 2H), 1,96-2,04(m, 3H), 1,62-1,84(m, 12H). LC-MS *m/z*($M+H^+$): 340,3 R_T= 1,27 min

254

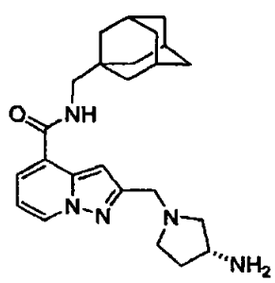
D. N-(ADAMANTAN-1-ILMETIL)-2-{[(3R)-3-AMINOPIRROLIDIN-1-IL] METIL}PIRAZOL [1,5-A]PIRIDIN-4-CARBOXAMIDA (COMPUESTO 4)

Paso 1. Ácido metansulfónico 4-[(adamantli-1-ilmetil) carbamoil]pirazol[1,5-a]piridin-2-ilmetil éster



Se adiciona cloruro de metansulfonilo (140 µL, 1,2 mmol)a una suspensión de 2-hidroximetil-pirazol[1,5-a]piridin-4-ácido carboxílico (adamantan-1-ilmetil)amida (510 mg, 1,5 mmol) en THF(15 ml) y trietilamina (310 µL, 2,3 mmol) bajo N_2. Después de 1 h, se filtra la mezcla (se lava con THF). Se remueven los volátiles bajo presión reducida para dar el compuesto del título como un sólido amarillo pálido. LC-MS *m/z*($M+Na^+$): 440,04

Paso 2. N-(adamantan-1-ilmetil)-2-{[(3R)-3-aminopirrolidin-1-il]metil}pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida



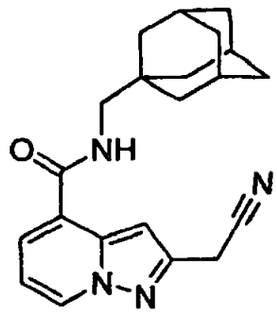
Compuesto 4

Se adiciona *tert*-Butil (*R*)-pirrolidin-3-ilcarbamato (420 mg, 2,3 mmol) a una mezcla de ácido metansulfónico 4-[(adamantli-1-ilmetil)carbamoil]pirazol[1,5-a]piridina-2-ilmetil éster (630 mg, 1,5 mmol), K_2CO_3 (530 mg, 3,8 mmol) y DMF (15 ml) bajo N_2.

Después de 3 h, se añade H_2O (50 ml). Se extrae la solución con EtOAc(50 ml). Los orgánicos son lavados con H_2O (50 ml) y salmuera (50 ml) y luego se secan sobre Na_2SO_4, se filtran y se concentran. La purificación por cromatografía de columna flash (NH_4OH al 1% en CH_2Cl_2:MeOH 95:5) da éster *tert*-butílico del ácido (R)-(1-{4-[(adamantan-1-ilmetil)carbamoil]pirazol[1,5-a] piridin-2-ilmetil}pirrolidin-3-il)carbámico como una espuma color canela. Se disuelve la espuma en MeOH (12 ml) y HCl 4 M en dioxano(3,0 ml). Después de 6 h, se remueven los volátiles bajo presión reducida para dar una espuma color canela. Se adiciona K_2CO_3 ac. Sat. Al 15% (50 ml) y la mezcla se extrae con EtOAc (5x25 ml). Se secan los orgánicos combinados sobre Na_2SO_4, se filtran y se concentran. La purificación por cromatografía de columna flash (NH_4OH al 1% en CH_2Cl_2:MeOH 9:1 a NH_4OH al 2% en CH_2Cl_2:MeOH 4:1) da el compuesto del título como una espuma color canela. ^1H NMR(300 MHz, $CDCl_3$)δ: 8,49 (d, 1H), 7,54 (dd, 1H), 6,77 (s, 1H), 6,75 (t, 1H), 6,30 (bt, 1H), 4,85 (dd, 2H), 3,48-3,58(m, 1H), 3,20 (d, 2H), 2,77-2,88 (m, 2H), 2,52 (m, 1H), 2,43 (dd, 1H), 2,14-2,28(m, 1H), 1,45-2,05(m, 18H). LC-MS *m/z* ($M+H^+$): 408,3; R_T=1,15 min.

E. N-(ADAMANTAN-1-ILMETIL)-2-(CIANOMETIL)PIRAZOL[1,5-A]PIRIDIN-4-CARBOXAMIDA (COMPUESTO 5)

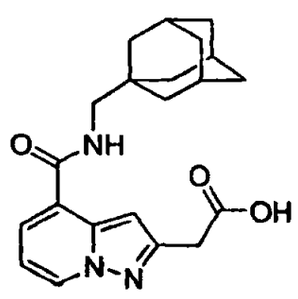
256



Compuesto 5

A una solución de 4-[(adamantli-1 -ilmetil)carbamoil]pirazol[1,5-a]piridin-2-ilmetil éster del ácido metansulfónico (720 mg, 2,1 mmol) y DMF (20 ml)se añade cianuro de sodio (520 mg, 11 mmol)bajo N_2. Se calienta la mezcla a 60°C por una hora. Después de enfriar a temperatura ambiente la mezcla se diluye con EtOAc (50 ml) y luego se lava con $NaHC0_3$ al 50% ac. sat. (2x50 ml) y salmuera (50 ml). Las sustancias orgánicas se secan sobre Na_2SO_4, se filtran y se concentran. La purificación por cromatografía de columna flash (EtOAc: hexanos 2:1) da el compuesto del título como una espuma color canela. ^1H NMR (300 MHz, $CDC1_3$) δ: 8,48 (d, 1H), 7,54 (dd, 1H), 6,91 (s, 1H), 6,83 (t, 1H), 6,26 (bs, 1H), 3,97 (s, 2H), 3,20 (d, 2H), 1,97 - 2,05 (m, 3H), 1,55 - 1,79 (m, 12H). LC-MS *m/z* (M + H^+): 349,3; R_T= 1,28 min.

F. ÁCIDO {4-[(ADAMANTAN-1-ILMETIL)CARBAMOIL]PIRAZOL[1,5-*A*]PIRIDIN-2-IL} ACÉTICO (COMPUESTO 6)

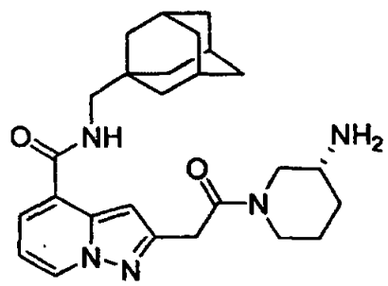


Compuesto 6

257

A (adamantan-1-ilmetil)amida del ácido 2-cianometilpirazol[1,5-a]piridin-4-carboxílico se le añade una solución de HCl concentrado (2,3 ml) y AcOH (4,6 ml). La solución se calienta a 60°C por 20 h. Se remueven los volátiles bajo presión reducida y el residuo se disuelve en NaOH ac. 1 M (10 ml). La solución se lava con Et_2O. La capa acuosa se acidifica hasta pH ~3 con HCl ac. 1 M. Se filtra la mezcla y el filtrado se seca para dar el compuesto del título como un sólido color canela claro. ^1H NMR (400 MHz, $((CD_3)_2SO)$ δ: 8,71 (d, 1H), 8,40 (bt, 1H), 7,60 (d, 1H), 6,90 (t, 1H), 6,79 (s, 1H), 3,75 (s, 2H), 2,99 (d, 2H), 1,88 - 1,96 (m, 3H), 1,46 - 1.70 (m, 12H). LC-MS *m/z* (M + H^+): 368,3; R_T = 1,27 min.

G. N-(ADAMANTAN-1-ILMETIL)-2-{2-[(3R)-3-AMINOPIPERIDIN-1-IL]-2-OXOETIL}PIRAZOL[1,5-A]PIRIDIN-4-CARBOXAMIDA (COMPUESTO 7)



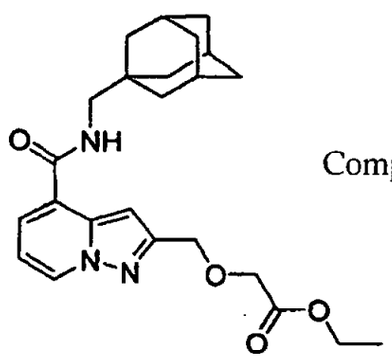
Compuesto 7

Se añade BOP (250 ml, 570 mmol) a una mezcla de ácido {4-[(adamantan-1-ilmetil)carbamoil]-pirazol[1,5-a]piridin-2-il} acético (160 mg, 435 µmol), tert-butil (R)-piperidin-3-ilcarbamato (96 mg, 480 µmol), iPr_2NEt (230 µl, 1,3 mmol), y DMF (2,2 ml) bajo N_2. Se sella el recipiente de reacción y la solución se deja por 15 h en agitación. Se añade EtOAc (25 ml). Se lava la solución con H_2O (2 x25 ml) y salmuera (25 ml). Las

258

sustancias orgánicas se secan sobre Na_2SO_4, se filtra y se concentra. La purificación por cromatografía de columna flash da *tert*-butil éster del ácido (R)-(1-{4-[(adamantan-1-ilmetil)carbamoil]pirazol[1,5-a]piridin-2-1} acetil)piperidin-3-il]carbámico como una espuma naranja. Después de 16 h, se remueven los volátiles bajo presión reducida para dar un sólido color canela claro. Se añade K_2CO_3 acuoso al 15% (30 ml). Se extrae la solución con EtOAc (2x 30 ml). Las materias orgánicas combinadas se secan sobre Na_2SO_4 se filtran y se concentran. La purificación por cromatografía de columna flash (1% NH4OH in 9:1 CH_2Cl_2:MeOH) da el compuesto del título como espuma color canela. ^1H NMR (400 MHz, $CDC1_3$) δ: 8,46 - 8,64 (m, 1H), 7,44 (bs, 1H), 6,68 - 6,80 (m, 2H), 3,86 - 4,17 (m, 3H), 3,38 - 3,61 (m, 3H), 3,12 - 3,25 (m, 3H), 1,40 - 2,04 (m, 19H). LC-MS *m/z* (M + H^+): 450,3; R_T = 1,17.

H. ÉSTER ETÍLICO DEL ÁCIDO {4-[(ADAMANTAN-1-ILMETIL)CARBAMOIL] PIRAZOL[1,5-A]PIRIDIN-2-ILMETOXI} ACÉTICO (COMPUESTO 8)



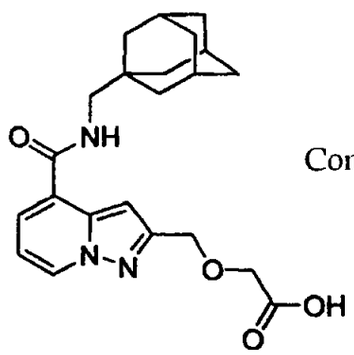
Compuesto 8

A una mezcla de (adamantan-1-ilmetil)amida del ácido 2-hidroximetil-pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxílico (73 mg, 210 (1 mol) y DMF (1 ml) se añade una solución de tBuOK en THF (0,3 ml) 1,0 M a 0 °C bajo N_2. Después de 5 minutos se añade etil

259

bromoacetato (30 µl, 280 µmol). Se elimina el baño frío y se deja en agitación por 23 h. Se añade $NaHCO_3$ ac. Sat. al 50% y se extrae la solución con EtOAc (20 ml). Las materias orgánicas se secan sobre Na_2SO_4, se filtran y se concentran. La purificación por PTLC (EtOAc:hexanes 2:1) da el compuesto del título como una película amarillo pálido. ^1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 8,50 (dd, 1H), 7,57 (d, 1H), 6,88 (s, 1H), 6,81 (dt, 1H), 6,27 (bs, 1H), 4.88 (s, 2H), 4,22 (q, 2H), 4,19 (s, 2H), 3,21 (d, 2H), 1,94 - 2,04 (m, 3H), 1,56 - 1,78 (m, 12H), 1,28 (t, 3H). LC-MS *m/z* (M + H*): 426,3; R_T= 1,31.

I. ÁCIDO {4-[(ADAMANTAN-1-ILMETIL)CARBAMOIL]PIRAZOL[1,5-A] PIRIDIN-2-ILMETOXI} ACÉTICO (COMPUESTO 9)



Compuesto 9

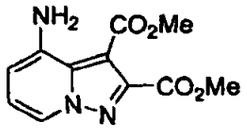
A una solución de etil éster del ácido {4-[(adamantan-1-ilmetil)carbamoil]-pirazol[1,5-a]piridin-2-ilmetoxi}acético (11 mg, 25 µmol) y EtOH (250 µl) se añade KOH ac. 3 M (50 µl). Después de 18 h se remueven los volátiles bajo presión reducida. El residuo se diluye con H_2O (0,3 ml) y luego se acidifica con HCl ac. 1 M. El compuesto del título se recolecta por filtración. ^1H NMR (400 MHz, $((CD_3)_2SO)$ δ: 8,74 (d, 1H), 8,42 (bs, 1H), 7,62 (d, 1H), 6.93 (t, 1H), 6,84 (s, 1H), 4,70 (s,

260

2H), 4,08 (s, 2H), 2,99 (d, 2H), 1,86 - 2,00 (m, 3H), 1,48 - 1,73 (m, 12H). LC-MS *m/z* (M + H^+): 398,3; R_T= 1,26.

J. ÉSTER ETÍLICO DEL ÁCIDO 4-(2-ADAMANTAN-1-ILACETILAMINO) PIRAZOL[1,5-*A*]PIRIDIN-2-CARBOXÍLICO (COMPUESTO 10)

Etapa 1. Dimetil Ester del ácido 4-aminopirazol[1,5-a]piridin-2,3-dicarboxílico

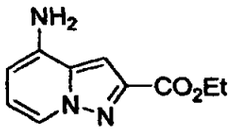


A una solución de 3-aminopiridina (4,9 g, 52 mmol) y CH_2Cl_2 (100 ml) se añade gota a gota una solución de *O*-mesitilenesulfonilhidroxilamina aproximadamente al 30~35% en agua (14,5 g, 52 mmol) y CH_2CI_2 (100 ml) a 0 °C durante 30 min. Después de 30 min a 0°C el baño de hielo se remueve y la solución se agita por 30 min a temperatura ambiente. Se remueven los volátiles bajo presión reducida para dar un aceite amarillo: *N*-amino-3-aminopiridinio mesitil sulfonato. Se añaden DMF (100 ml) y K_2CO_3 (15 g, 110 mmol). La mezcla marrón oscura se enfría en baño de agua. Se añade gota a gota durante 10 min dimetil acetilendicarboxilato (6,9 ml, 56 mmol). El baño de agua se remueve después de 15 min y la mezclase deja en agitación vigorosa por 66 h al aire. Se remueven los volátiles bajo presión reducida. El residuo se suspende en MeOH y la mezcla se filtra por medio de Celite (enjuague de MeOH). Se remueven los volátiles bajo presión reducida para dar un aceite marrón oscuro. Se añade $NaHCO_3$ acuoso Sat. al 33% y la solución se extrae con EtOAc (6x 200 ml). Los orgánicos combinados se secan sobre Na_2SO_4, se filtran y se concentran. La purificación

261

por cromatografía de columna flash (CH_2CI_2) da el compuesto del título como un aceite amarillo rojizo. LC-MS *m/z* (M + Na^+): 272,01.

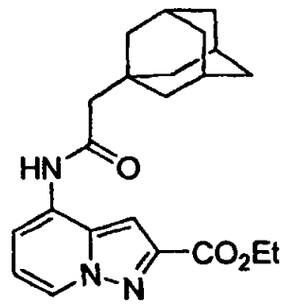
Etapa 2. Éster etílico de ácido 4-aminopirazol[1,5-a]piridin-2-carboxílico



Se añade H_2SO_4 acuoso al 50% (60 ml) a dimetil Ester del ácido 4-aminopirazol[1,5-a]piridin-2,3-dicarboxílico (1,47 g, 5,90 mmol) al aire. Se calienta la mezcla a 80°C. Después de 6,5 h se enfría la mezcla a 0°C y luego se neutraliza con NaOH ac. 10 N. La suspensión resultante se acidifica a pH 3 con HCl ac. 1 M. Se remueven los volátiles bajo presión reducida. Se lavan con EtOH al 30% en CH_2CI_2. Se remueven los volátiles bajo presión reducida para dar ácido 4-aminopirazol[1,5-a]piridin-2-carboxílico en Na_2SO_4. LC-MS *m/z* (M + H^+): 178,01. Al ácido 4-aminopirazol[1,5-a]piridin-2-carboxílico crudo se le añade una solución de H_2SO_4 concentrado (60 ml) y etanol (120 ml). Se calienta la mezcla a 75°C por 3,5 h. Después de enfriarla a temperatura ambiente, la mezcla se hace básica con la adición gota a gota de $NaHCO_3$ ac. sat. Se remueven los volátiles bajo presión reducida. La mezcla acuosa se filtra (enjuague con EtOAc). La solución acuosa se extrae con EtOAc (3 x 250 ml). Los orgánicos combinados se secan sobre Na_2SO_4, se filtra y concentra para dar el compuesto del título como un sólido marrón oscuro. LC-MS *m/z* (M + Na^+): 228,03.

262

Etapa 3. Éster etílico del ácido 4-(2-adamantan-1-ilacetilamino)pirazol[1,5-a]piridin-2-carboxílico



Compuesto 10

A una solución de ácido 1-adamantanacetico (14 mg, 80 µmol) y etil éster del ácido 4-aminopirazol[1,5-a]piridin-2-carboxílico (12 mg, 60 µmol) en DMF (0,3 ml), se añade una solución de trietilamina 1.0 M en tolueno (0,3 ml) bajo N_2. Se añade una solución de cloruro de 2-cloro-1,3-dimetilimidazolinio (20 mg, 120 µmol) en ACN (0,3 ml). Se sella el recipiente de reacción y la mezcla se calienta a 50°C por 2h. Se enfría la mezcla a temperatura ambiente y se añade $NaHO_3$ ac. Sat. al 50%. Se extrae la solución con EtOAc (2 x 1 ml). Se concentran los orgánicos combinados. La purificación por cromatografía de capa delgada preparativa (hexanes:EtOAc 2:1) da el compuesto del título como un sólido color canela claro. ^1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) 6: 8,32 (d, 1H), 8,5(d, 1H), 7,15 (s, 1H), 7,05 (s, 1H), 6,91 (t, 1H), 4,59 (q, 2H), 2,21 (s, 2H), 1.98 - 2,5(m, 3H), 1,56 - 1,78 (m, 12H), 1,46 (t, 3H). LC-MS *m/z* ($M + H^+$): 382,10.

EJEMPLO 2

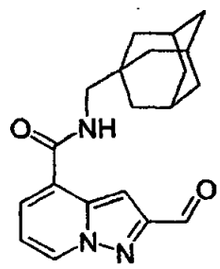
Síntesis de Análogos Adicionales Representativos de Amidas Heteroarílicas

263

Este ejemplo ilustra la síntesis de análogos representativos de amidas heteroarílicas de la Fórmula I, así como también algunos intermedios útiles en la preparación de tales compuestos

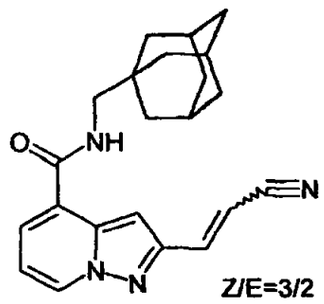
A. (ADAMANTAN-1-ILMETIL)-AMIDA DEL ÁCIDO 2-(2-CIANO-VINIL) -PIRAZOL [1,5-A]PIRIDIN-4-CARBOXÍLICO(COMPUESTO 11)

Paso 1. (adaman-1-ilmeti)-amida del ácido 2-formil-pirazol [1,5-a]piridin-4-carboxílico



Una solución de éster etílico del ácido 4-[(adaman-1-ilmetil)-carbamoil]-pirazol[1,5-a]piridin-2-carboxílico (1,2 g, 3,1 mmol) en THF (25 ml) se enfría a -78°C. Se añade, gota a gota, una solución de DIBAL-H (1M en hexano, 25 ml). Se agita la mezcla por 2h a -78°C. Se añade una solución de sal de Rochelle saturada, y la mezcla se agita por 4 h a t.a. La mezcla se extrae con DCM (4 x 70 ml) y la capa orgánica se seca sobre Na_2SO_4. La purificación por columna flash (se eluye con MeOH 2-3% en DCM) da el compuesto del título.

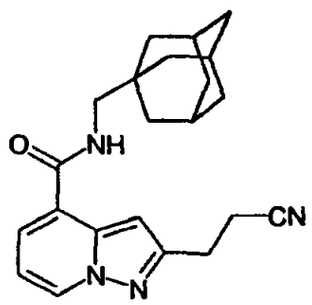
Paso 2. (adamantan-1-ilmetil)-amida del ácido 2-(2-Ciano-vinil) -pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxílico



Compuesto 11

Se añade $Ph_3P=CHCN$ (735 mg, 2,5 mmol) a una solución de adaman-1-ilmetil)-amida del ácido 2-formil-pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxílico (700 mg, 2,1 mmol) en THF at t.a. La mezcla se agita por 2 h. Se remueve el solvente y la mezcla resultante de isómeros Z y E se separa por columna flash (se eluye con EtOAc 20 a 30% en hexano) en isómero puro Z, isómero puro E y una mezcla (Z/E).

B. N-(ADAMANTAN-1-ILMETIL)-2-(CIANOETIL)PIRAZOL[1,5-*A*]PIRIDIN-4- CARBOXAMIDA (COMPUESTO 12)

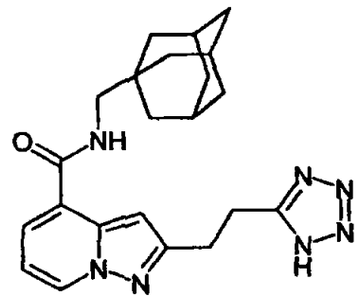


Compuesto 12

Se añade Pd/C (50 mg) a una solución de (adamantan-1-ilmetil)-amida del ácido 2-(2-ciano-vinil)-pirazol[1,5 a]piridin-4-carboxílico en MeOH. La mezcla se agita en balón de hidrógeno por 6 h. La mezcla se filtra por Celita y la Celita y el solvente se retiran para dar el compuesto del título. LC-MS *m/z* ($M + H^+$) 363.

265

C. (ADAMANTAN-1-ILMETIL)-AMIDA DEL ÁCIDO 2-2[(1H-TETRAZOL-5IL)-ETIL]-PIRAZOL[1,5 *A*]PIRIDIN-4-CARBOXÍLICO (COMPUESTO 13)

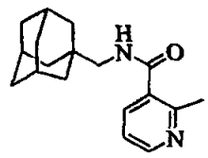


Compuesto 13

Se añaden NaN_3 (65 mg, 0,48 mmol) y NH_4Cl (26 mg, 0,48 mmol a una solución de (adamantan-1-ilmetil)-amida del ácido 2-(2-ciano-etil)-pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxílico (58 mg, 0.16 mmol) en DMSO a t.a. La mezcla se calienta a 130°C por 6 h. se añade NaN_3 adicional (65 mg, 0.48 mmol), y la mezcla se calienta por 14 h. La mezcla se enfría a t.a. Se añade H_2O y el pH se ajusta a cerca de 7. Se extrae la capa acuosa con EtOAc (3x15 ml), se seca sobre Na_2SO_4 y el solvente se remueve hasta sequedad. El producto crudo se purifica por PTLC (se eluye con MeOH al 2% en DCM) para dar el compuesto del título. ^1H NMR ($CDCl_3$): 8,49-8,47 (d, 1H), 7,52-7,50 (d, 1H), 6,79-6,69 (t, 1H), 6,69 (s, 1H), 6,40 (b, 1H), 3,44-3,41 (m, 2H), 3,31-3,29 (m, 2H), 3,20-3,19 (m, 2H), 2,00 (b, 3H), 1,74-1,60 (m, 12H), LC-MS *m/z* ($M + H^+$): 406,07.

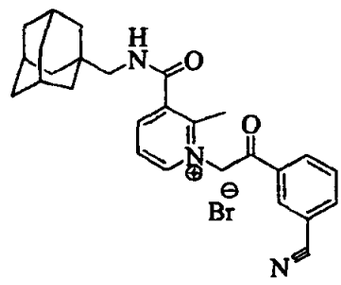
D. N-(ADAMANTAN-1-ILMETIL)-3-(3-CIANOBENZOIL)INDOLIZIN-8-CARBOXAMIDA (COMPUESTO 14)

Paso 1. N-(Adamantan-1-ilmetil)-2-metilnicotinamida



A una mezcla de ácido 2-metilnicotínico (2,06 g, 15 mmol) en 40 ml de DMF se añaden secuencialmente diisopropiletilamina (5,2 ml, 30 mmol), 1-adamantan-1-ilmetanamina (2,5 g, 15 mmol), y benzotriazol-1-iloxitris-(dimetilamino)-fosfonio hexafluorofosfato (reactivo BOP, 8 g, 18 mmol). La mezcla resultante se agita a t.a. por 17 h. Se vierte luego la mezcla en agua helada (150 ml), y el sólido precipitado se recolecta por filtración al vacio y se seca *in vacuo* para dar el compuesto del título como un sólido color hueso. Espectrometría de masas. (285.19, M+H).

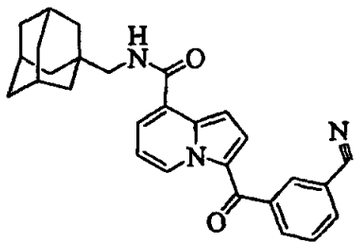
Paso 2. Bromuro de 3-[(adamantan-1-ilmetil)carbamoil] -1-[2-(3-cianofenil)-2-oxoetil]-2-metilpiridinio



Una mezcla de N-(adamantan-1-ilmetil)-2-metilnicotinamida (300 mg, 1,05 mmol) y 3-(bromoacetil)benzonitrilo (235 mg, 1,05 mmol) en 10 ml de acetona se agita en reflujo por 2,5 días. Después de enfriar a t.a., se evapora la mayor parte de la acetona y la mezcla restante se filtra. El sólido recolectado se seca *in vacuo* para dar el compuesto del título como un sólido blanco. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 8,93 (1H, m), 8,86

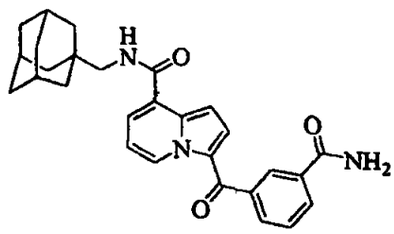
(1H, bs), 8,62 (1H, d), 8,58 (1H, s), 8,33 (1H, d), 8,26 (1H, d), 8,14 (1H, t), 7,87 (1H, t), 6,60 (2H, s), 3,01 (2H, d), 2,67 (3H, s), 1,94 (3H, s), 1,63 (6H, m), 1,51 (6H, s).

Paso 3. N-(Adamantan-1-ilmetil)-3-(3-cianobenzoil)indolizin-8-carboxamida



Una mezcla de bromuro de 3-[(adamantan-1-ilmetil)carbamoil]-1-[2-(3-cianofenil)-2-oxoetil]-2-metilpiridinio (400 mg, 0,81 mmol) y N,N-dimetilformamida dimetil acetal (0,22 ml, 1,62 mmol) en DMF (2,0 ml) se agita a 110°C por 3 h. La mezcla se concentra *in* vacuo y se purifica por cromatografía de columna (gradiente de CH_2Cl_2 a EtOAc/CH_2Cl_2 al 10%) para dar el compuesto del título como un sólido amarillo. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 9,91 (1H, d), 8,53 (1H, t), 8,15 (1H, m), 8,05 (2H, m), 7,74 (1H, t), 7,66 (1H, dd), 7,44 (1H, d), 7,22 (1H, t), 6,95 (1H, d), 3,01 (2H, d), 1,93 (3H, s), 1,63 (6H, m), 1,52 (6H, s), espectrometría de masas (438,19, M+H).

E. N-(ADAMANTAN-1-ILMETIL)-3-(3-CARBAMOILBENZOIL)INDOLIZIN-8-CARBOXAMIDA (COMPUESTO 15)



A H_2SO_4 enfriado con hielo (0,5 ml) se añade en una porción N-(adamantan-1-ilmetil)-3-(3-ciano-benzoil)indolizin-8-carboxamida (50 mg, 0,11 mmol). La mezcla se agita a 0°C hasta que llegue a estar homogénea, momento en el cual se retira el baño de hielo y la (mezcla de) reacción se calienta hasta t.a. Después de agitar por 12 h, se enfría de nuevo a 0°C y se sumerge en hielo. La solución resultante se neutraliza a pH = 7-8 con NaOH 5N y se extrae con EtOAc (20 ml). El extracto en EtOAc se seca (Na_2SO_4), se filtra, y se evapora para dar el compuesto del título como un sólido amarillo. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 9,92 (1H, d), 8,50 (1H, t), 8,22 (1H, s), 8,09 (2H, m), 7,88 (1H, d), 7,62 (2H, m), 7,48 (1H, s), 7,40 (1H, d), 7,19 (1H, t), 6,94 (1H, d), 3,00 (2H, s), 1,93 (3H, s), 1,62 (6H, m), 1,52 (6H, s). Espectrometría de masas (456,21, M+H).

EJEMPLO 3

Síntesis De Análogos Adicionales Representativos De Amidas Heteroarílicas

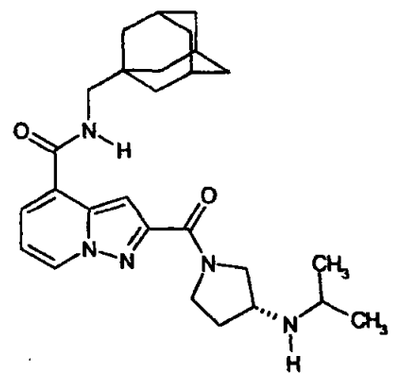
Usando modificaciones de rutina, pueden variarse las materias primas y los pasos adicionales empleados para producir otros compuestos provistos aquí. Los compuestos de la lista de

las tablas I y II se preparan usando tales métodos. En la columna de la tabla I titulada "IC_{50}" un "*" indica que el IC_{50} determinado como se describe en el ejemplo 4A es 2 micromolar o menos (i.e. la concentración de tales compuestos que se requiere para proporcionar una disminución del 50% en la respuesta de fluorescencia de las células expuestas a 80μM de (2'(3')(4-benzoil-benzoil)adenosina5'-trifosefato) es 2 micromolar o menos).

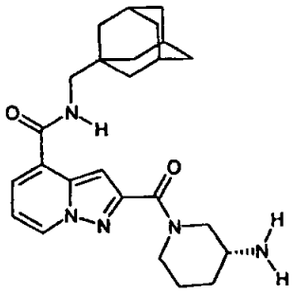
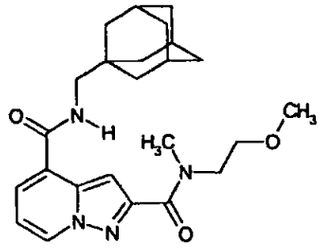
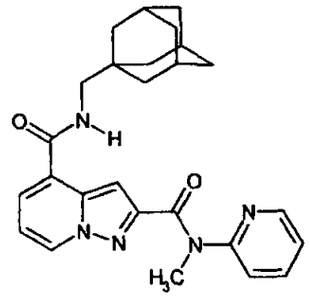
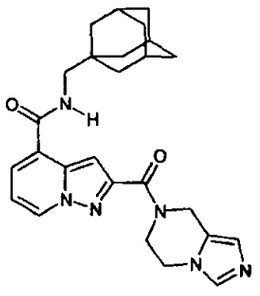
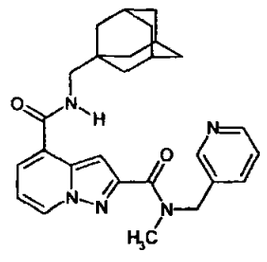
Los datos de la Espectroscopia de Masas se proporcionan en la tabla I como (M+1)en la columna encabezada "MS". El tiempo de retención, en minutos, se proporciona en la columna encabezada R_T.

Tabla I

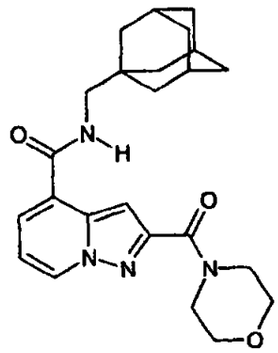
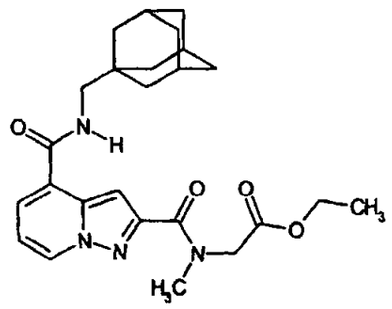
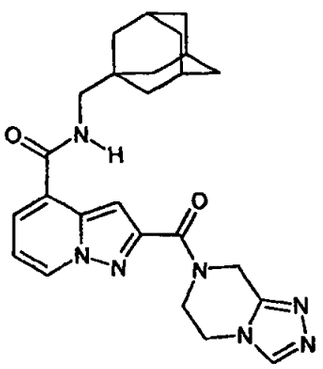
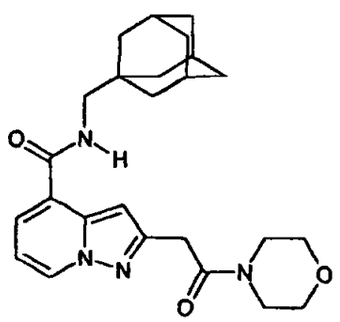
Análogos Representativos de Amidas Heteroarílicas

COMPUESTO	NOMBRE	MS	R_T	IC_{50}
16 	N-(adamantan-1-ilmetil)-2-{[(3R)-3-(isopropilamino)pirrolidin-1-il]carbonil}pirazol[1,5-]piridin-4-carboxamida	464,3	1,21	*

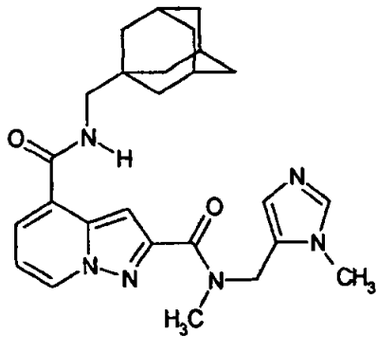
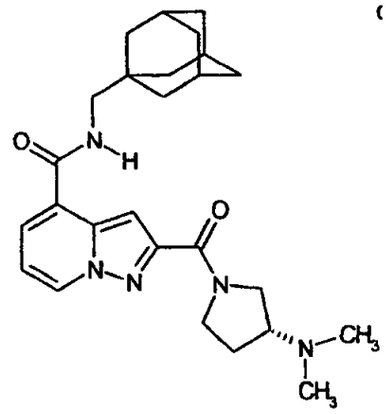
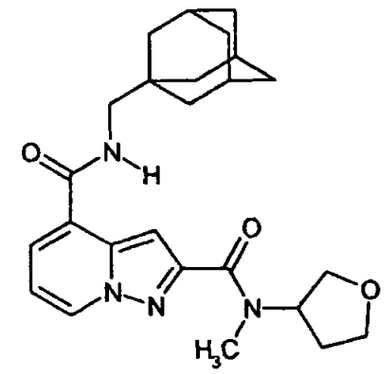
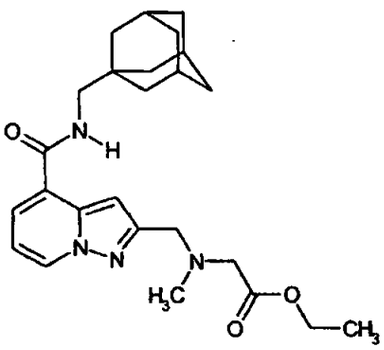
270

COMPUESTO		NOMBRE	MS	R_T	IC_{50}
17		Quiral N-(adamantan-1-ilmetil)-2-{[(3R)-3-aminopiperidin-1-il] carbonil}pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida	436,3	1,18	*
18		Quiral 4-N-(adamantan-1-ilmetil)-2-N-(2-metoxietil)-2-N-metilpirazol[1,5-a]piridin-2,4-dicarboxamida	425,3	1,3	*
19		4-N-(adamantan-1-ilmetil)-2-N-metil-2-N-piridin-2-ilpirazol [1,5-a]piridin-2,4-dicarboxamida	444,3	1,28	*
20		N-(adamantan-1-ilmetil)-2-(5,6 dihidroimidazo[1,5-a]pirazin-7(8H))-ilcarbonil)pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida	459,3	1,2	*
21		4-N-(adamantan-1-ilmetil)-2-N-metil-2-N-(piridin-3-ilmetil)pirazol[1,5-a]piridin-2,4-dicarboxamida	458,2	1,37	*

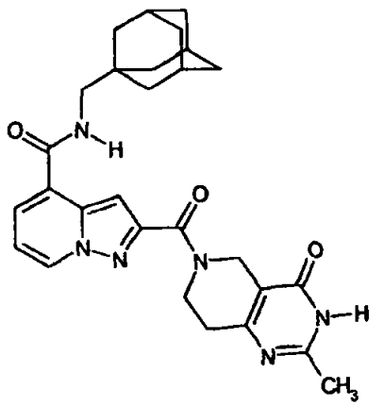
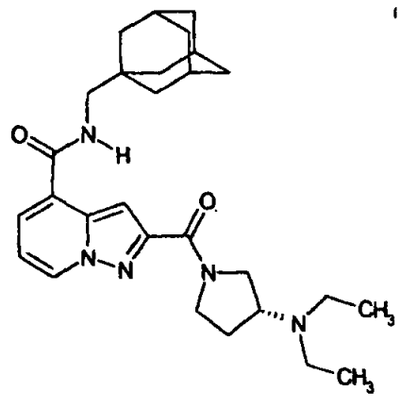
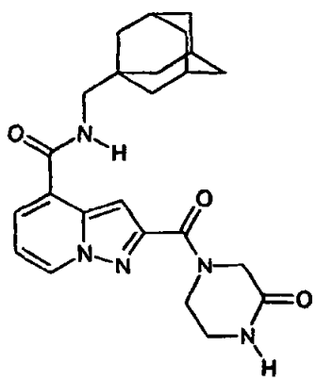
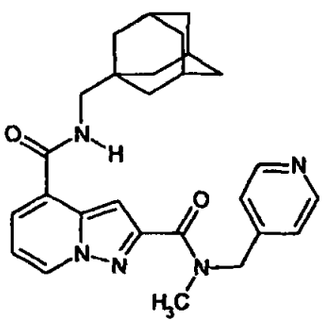
271

COMPUESTO		NOMBRE	MS	R_T	IC_{50}
22		N-(adamantan-1-ilmetil)-2-(morfolin-4-ilcarbonil) pirazol[1,5-a] piridin-4-carboxamida	423,2	1,44	*
23		etil N-({4-[(adamantan-1-ilmetil)carbamoil] pirazol[1,5-a] piridin-2-il} carbonil)-N-metilglicinato	453,3	1,3	*
24		N-(adamantan-1-ilmetil)-2-(5,6-dihidro[1,2,4]triazol [4,3-a]pirazin7(8H)-ilcarbonil)pirazol[1, 5-a]piridin-4-carboxamida	460,3	1,24	*
25		N-(adamantan-1-ilmetil) -2-(2-morfolin-4-il-2-oxoetil)pirazol[1,5-a]pyridine-4 carboxamida	437,2	1,39	*

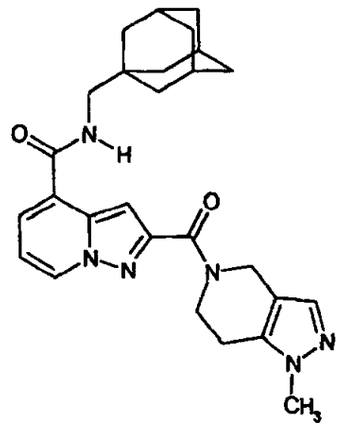
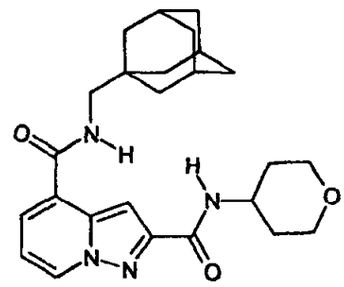
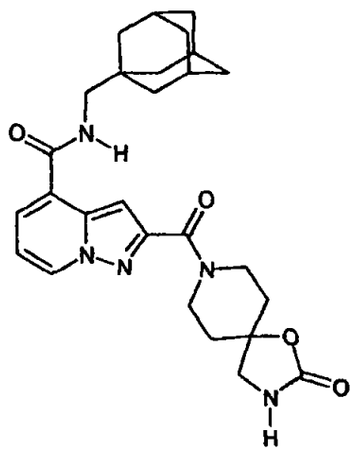
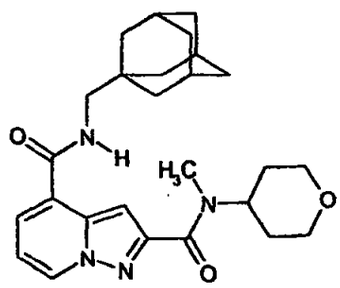
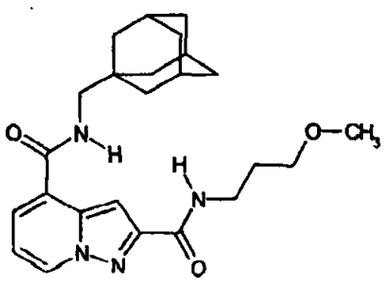
272

COMPUESTO		NOMBRE	MS	R_T	IC_{50}
26		4-N-(adamantan-1-il metil)-2-N-metil-2-N-[(1-metil-1H-imidazol-5-il)metil]pirazol [1,5-a]piridin-2,4-dicarboxamida	461,3	1,2	*
27		N-(adamantan-1-ilmetil)-2-{[(3R)-3-(dimetilamino) pirrolidin-1-il] carbonil}pirazol [1,5-a]piridin-4-carboxamida	450,3	1,17	*
28		4-N-(adamantan-1 -ilmetil)-2-N-metil-2-N-(tetrahidrofuran-3-il)pirazol[1,5-a]piridin-2,4-dicarboxamida	437,3	1,28	*
29		etil N-({4-[adamantan-1- ilmetil)carbamoil] pirazol[1,5-a]piridin-2-il}metil)-N-metilglicinato	439,3	1,22	*

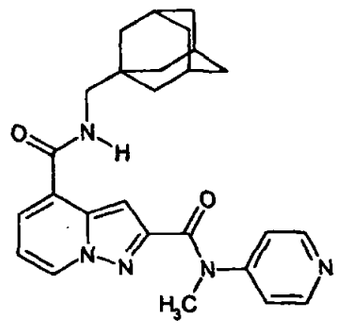
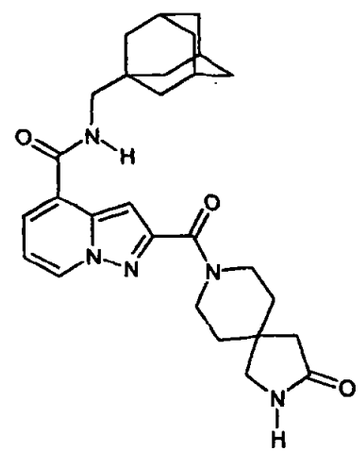
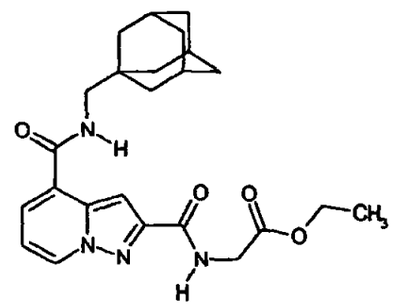
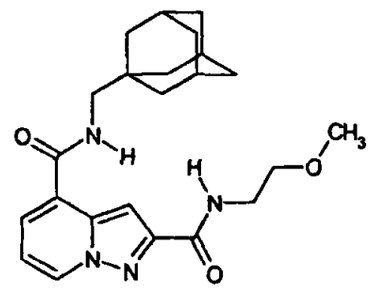
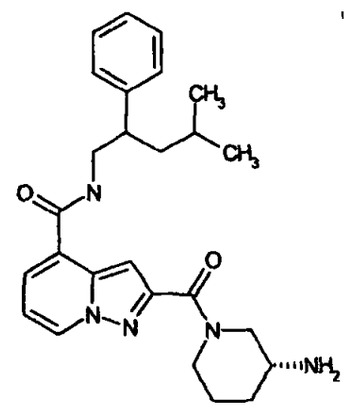
273

COMPUESTO	NOMBRE	MS	R_T	IC_{50}
30 	N-(adamantan-1-ilmetil)-2-[(2-metil-4-oxo-3,5,7,8-tetrahidropirido[4,3-d]pirimidin-6(4H)-il)carbonil]pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida	501,3	1,26	*
31 	(Quiral N-(adamantan-1-ilmetil)-2-{[(3R)-3-(dietilamino)pirrolidin-1-il]carbonil}pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida			*
32 	N-(adamantan-1-ilmetil)-2-[(3-oxopiperazin-1-il)carbonil]pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida	436,2	1,26	*
33 	4-N-(adamantan-1 -ilmetil)-2-N-metil-2-N-(piridin-4-ilmetil)pirazol[1,5-a]piridin-2,4-dicarboxamida	458,2	1,31	*

274

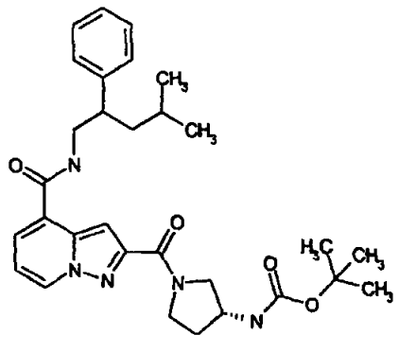
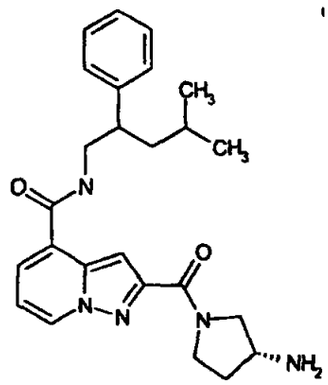
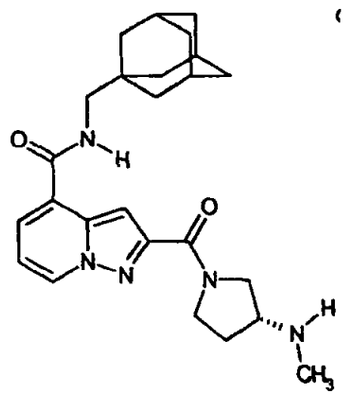
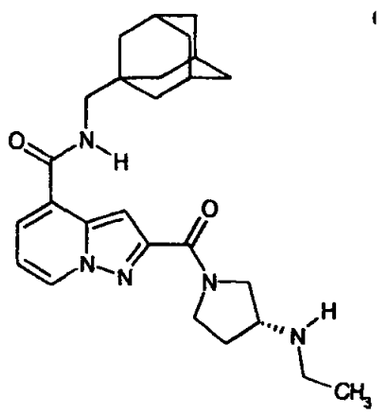
COMPUESTO		NOMBRE	MS	R_T	IC_{50}
34		N-(adamantan-1-ilmetil)-2-[(1-metil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-pirazol[4,3-c] piridin-5-il) carbonil]pirazol[1, 5-a]piridin-4-carboxamida	473,3	1,29	*
35		4-N-(adamantan-1 - ilmetil)-2-N-(tetrahidro-2H-piran-4-il)pirazol[1,5-a]piridin-2,4-dicarboxamida	437,3	1,29	*
36		N-(adamantan-1-ilmetil)-2-[(2-oxo-1-oxa-3,8-diazaspiro[4.5]dec-8-il)carbonil]pirazol[1, 5-a]piridin-4-carboxamida	492,3	1,26	*
37		4-N-(adamantan-1-ilmetil)-2-N-metil-2-N-(tetrahidro-2H-piran-4-il) pirazol[1,5-a] piridin-2,4-dicarboxamida	451,3	1,3	*
38		4-N-(adamantan-1 - ilmetil)-2-N-(3-metoxipropil)pirazol [1,5-a]piridin-2,4-dicarboxamida	425,3	1,3	*

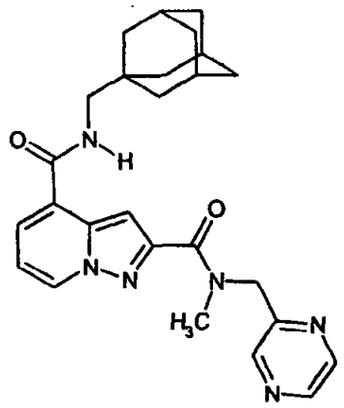
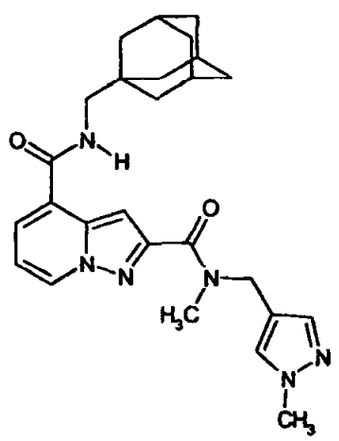
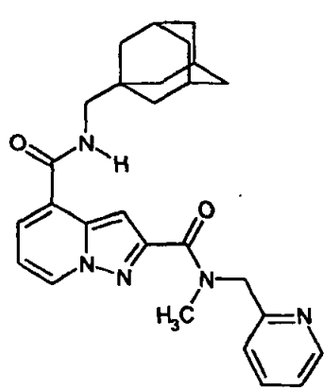
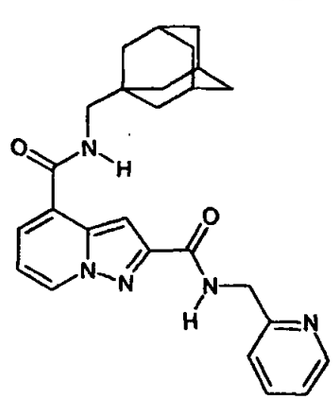
275

COMPUESTO		NOMBRE	MS	R_T	IC_{50}
39		4-N-(adamantan-1 -ilmetil)-2-N-metil-2-N-piridin-4-ilpirazol[1,5-a]piridin-2,4-dicarboxamida	444,3	1,21	*
40		N-(adamantan-1-ilmetil)-2-[(3-oxo-2,8-diazaspiro[4.5]dec-8-il) carbonil]pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida	490,4	1,25	*
41		etil N-({4-[(adamantan-1-ilmetil)carbamoil] pirazol[1,5-a] piridin-2-il}carbonil) glicinato	439,3	1,3	*
42		4-N-(adamantan-1-ilmetil)-2-N-(2-metoxetil)pirazol [1,5-a]piridin-2,4-dicarboxamida	411,3	1,28	*
43		2-{[(3R)-3-aminopiperidin-1-il]carbonil}-N-(4-metil-2-fenilpentil)pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida	448,4	1,2	*

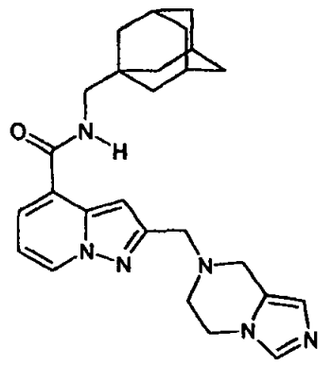
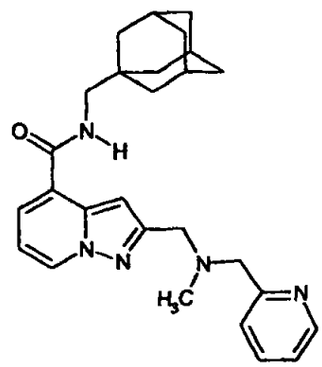
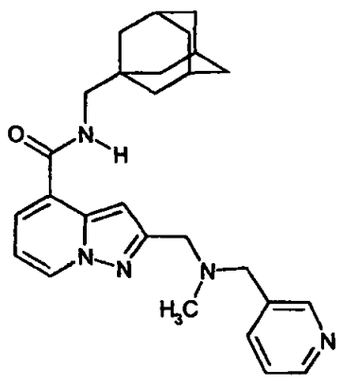
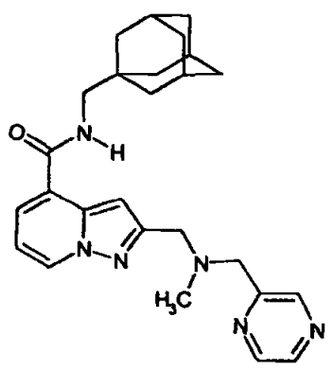
Quiral

276

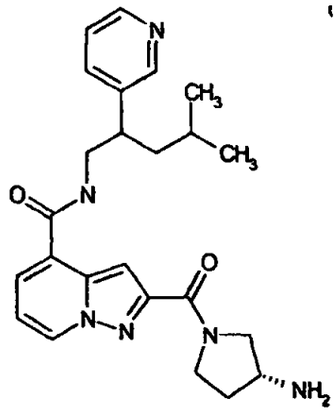
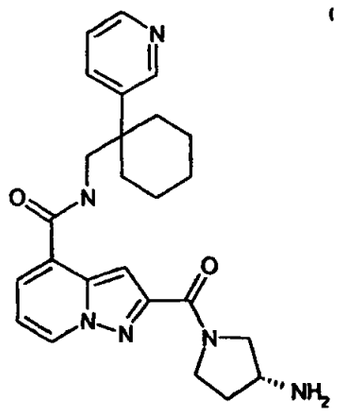
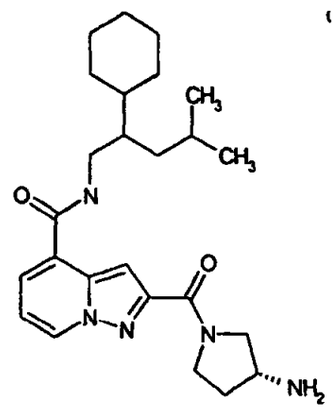
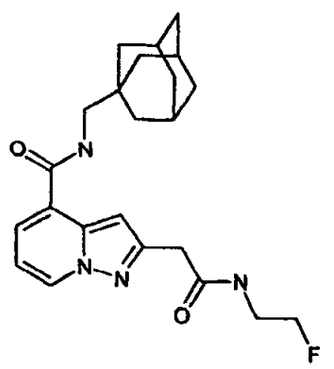
COMPUESTO		NOMBRE	MS	R_T	IC_{50}
44		tert-butil [1-({4-[(4-metil-2-fenilpentil) carbamoil] pirazol [1,5-a] piridin-2-il}carbonil) pirrolidin-3-il] carbamato	478,3	1,33	
	(Quiral				
45		2-{[(3R)-3-aminopirrolidin-1-il]carbonil}-N-(4-methil-2-fenilpentil)pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida	434,4	1,21	*
	(Quiral				
46		N-(adamantan-1-ilmetil)-2-{[(3R)-3-(metilamino)pirrolidin-1-il]carbonil} pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida	436,4	1,2	*
	(Quiral				
47		N-(adamantan-1-ilmetil)-2-{[(3R)-3-(etilamino)pirrolidin-1-il]carbonil} pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida	450,4	1,22	*

COMPUESTO		NOMBRE	MS	R_T	IC_{50}
48		4-N-(adamantan-1-ilmetil)-2-N-metil-2-N-(pirazin-2-ilmetil)pirazol[1,5-a]piridin-2,4-dicarboxamida	459,3	1,28	*
49		4-N-(adamantan-1-ilmetil)-2-N-metil-2-N-[(1-metil-1H-pirazol-4-il)metil]pirazol[1,5-a]piridin-2,4-dicarboxamida	461,3	1,28	*
50		4-N-(adamantan-1-ilmetil)-2-N-metil-2-N-(piridin-2-ilmetil)pirazol[1,5-a]piridin-2,4-dicarboxamida	458,3	1,26	*
51		4-N-(adamantan-1-ilmetil)-2-N-(piridin-2-ilmetil) pirazol[1,5-a]piridin-2,4-dicarboxamida	444,3	1,24	*

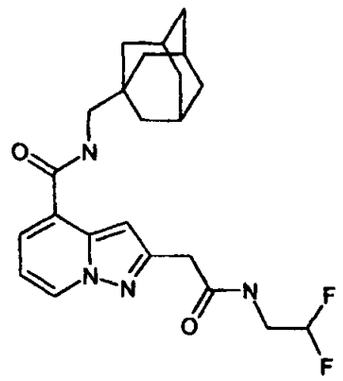
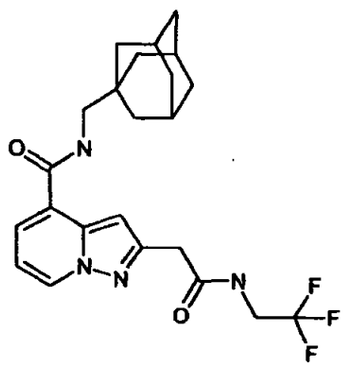
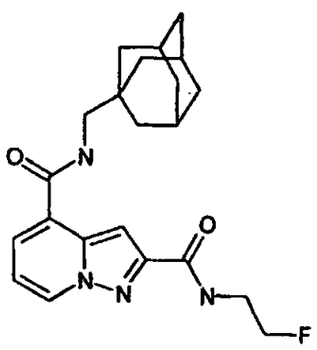
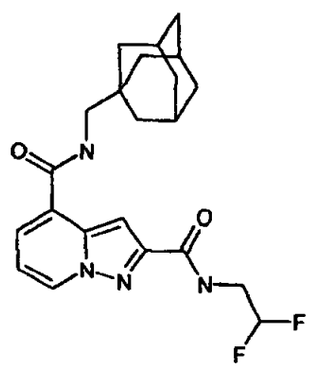
278

COMPUESTO		NOMBRE	MS	R_T	IC_{50}
52		N-(adamantan-1-ilmetil)-2-(5,6-dihidroimidazo[1,5-a]pirazin-7(8H)-ilmetil)pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida	445,4	1,21,	*
53		N-(adamantan-1-ilmetil)-2-{[metil(piridin-2-ilmetil)amino]metil} pirazol[1,5-a] piridin-4-carboxamida	444,4	1,23	*
54		N-(adamantan-1-ilmetil)-2-{[metil(piridin-3-ilmetil)amino]metil} pirazol[1,5-a] piridin-4-carboxamida	444,4	1,21	*
55		N-(adamantan-1-ilmetil)-2-{[metil(pirazin-2-ilmetil)amino]metil} pirazol[1,5-a] piridin-4-carboxamida	445,4	1,21	*

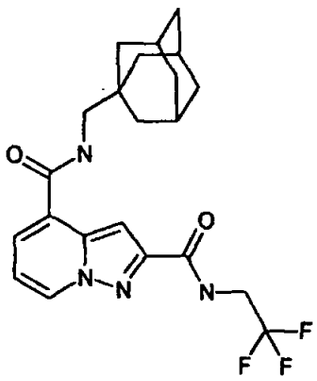
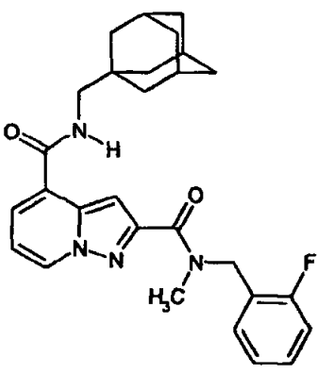
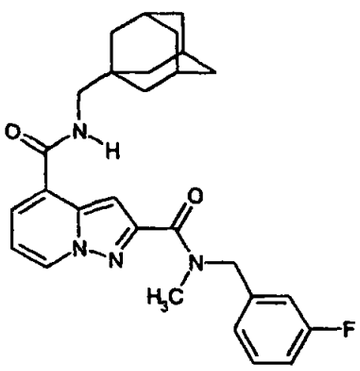
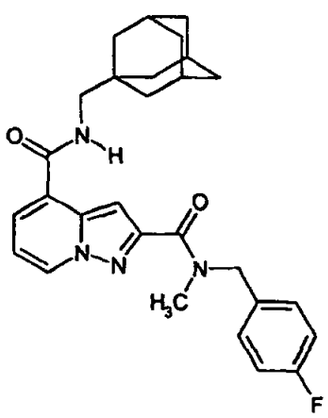
279

COMPUESTO		NOMBRE	MS	R_T	IC_{50}
56	 (Quiral	2-{[(3R)-3-aminopirrolidin-1-il]carbonil}-N-(4-metil-2-piridin-3-ilpentil)pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida	435,4	1	*
57	 (Quiral	2-{[(3R)-3-aminopirrolidin-1-il]carbonil}-N-[(1-piridin-3-ilciclohexil)metil] pirazol [1,5-a] piridin-4-carboxamida	447,4	0,96	*
58	 (Quiral	2-{[(3R)-3-aminopirrolidin-1-il]carbonil}-N-(2-ciclohexil-4-metilpentil)pirazol [1,5-a]piridin-4-carboxamida	440,4	1,28	
59		N-(adamantan-1-ilmetil)-2-{2-[(2-fluoroetil)amino]-2-oxoetil}pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida	413,3	1,26	*

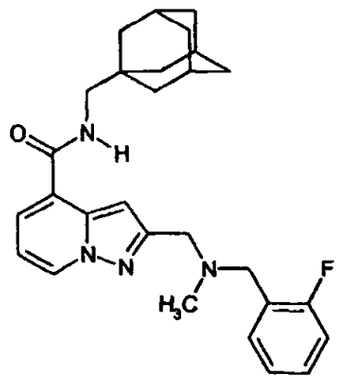
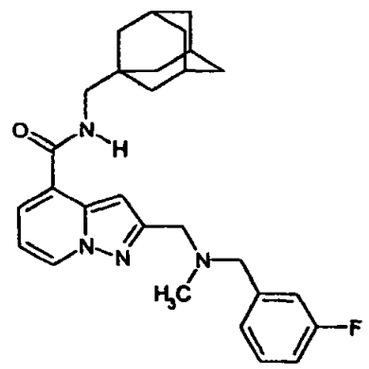
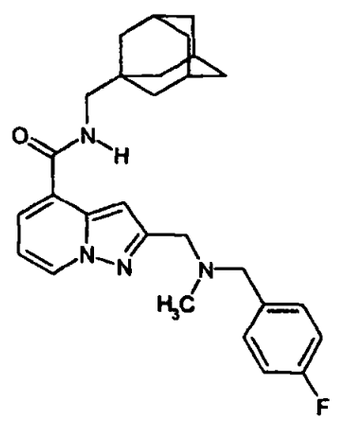
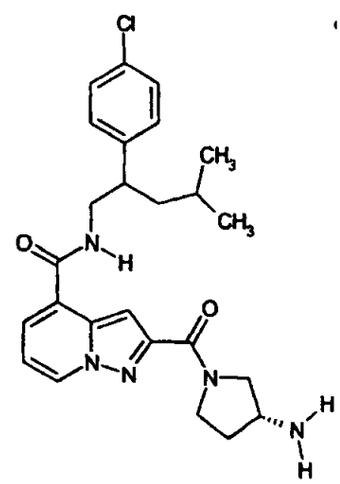
280

COMPUESTO	NOMBRE	MS	R_T	IC_{50}
60 	N-(adamantan-1-ilmetil)-2-{2-[(2,2-difluoroetil)amino]-2-oxoetil}pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida	431,3	1,28	*
61 	N-(adamantan-1-ilmetil)-2-{2-oxo-2-[(2,2,2-trifluoroetil)amino]etil}pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida	449,3	1,29	*
62 	4-N-(adamantan-1-ilmetil)-2-N-(2-fluoroetil)pirazol [1, 5-a]piridin-2,4-dicarboxamida	399,3	1,28	*
63 	4-N-(adamantan-1 -ilmetil)-2-N-(2,2-difluoroetil)pirazol [1,5-a]piridin-2,4-dicarboxamida	417,3	1,29	*

281

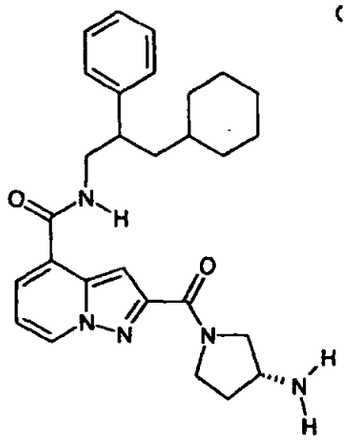
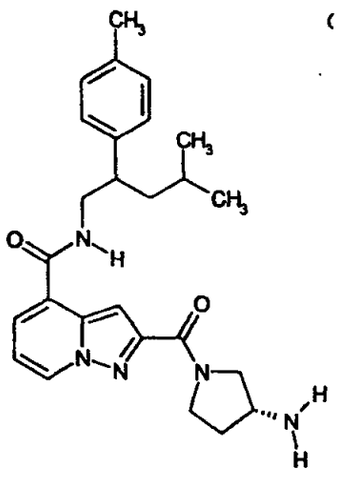
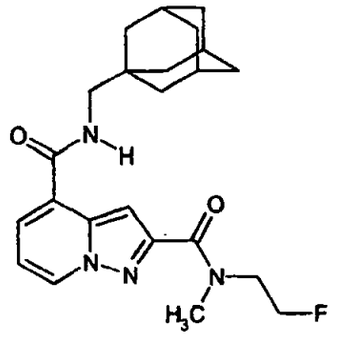
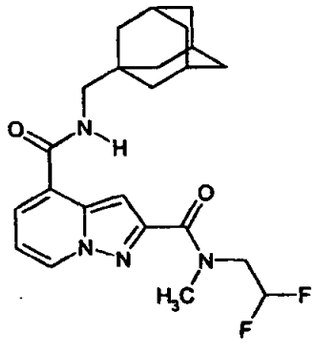
COMPUESTO		NOMBRE	MS	R_T	IC_{50}
64		4-N-(adamantan-1 -ilmetil)-2-N-(2,2,2-trifluoroetil)pirazol[1,5-a]piridin-2,4-dicarboxamida	435,3	1,31	*
65		4-N-(adamantan-1 -ilmetil)-2-N-(2-fluorobencil)-2-N-metilpirazol[1,5-a]piridin-2,4-dicarboxamida	475,3	1,36	*
66		4-N-(adamantan-1-ilmetil)-2-N-(3-fluorobencil)-2-N-metilpirazol[1,5-a]piridin-2,4-dicarboxamida	475,3	1,35	*
67		4-N-(adamantan-1 -ilmetil)-2-N-(4-fluorobencil)-2-N-metilpirazol[1,5-a]piridin-2,4-dicarboxamida	475,3	1,35	*

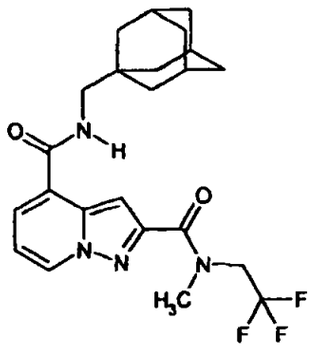
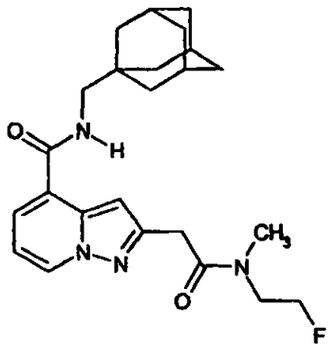
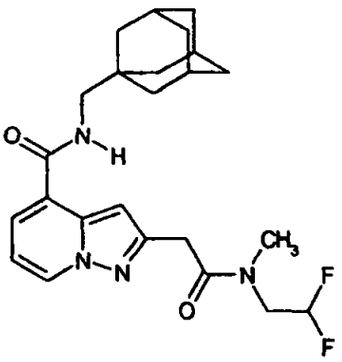
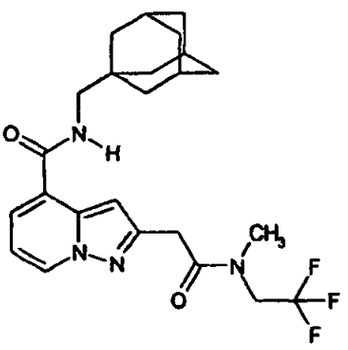
282

COMPUESTO		NOMBRE	MS	R_T	IC_{50}
68		N-(adamantan-1-ilmetil)-2-{[(2-fluorobencil)(metil)amino]metil}pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida	461,4	1,24	*
69		N-(adamantan-1-ilmetil)-2-{[(3-fluorobencil)(metil)amino]metil}pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida	461,4	1,24	*
70		N-(adamantan-1-ilmetil)-2-{[(4-fluorobencil)(metil)amino]metil}pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida	461,4	1,25	*
71		2-{[(3R)-3-aminopirrolidin-1-il]carbonil}-N-[2-(4-clorofenil)-4-metilpentil]pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida	468,3	1,23	*

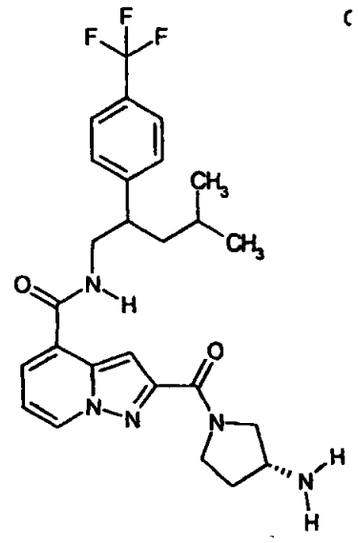
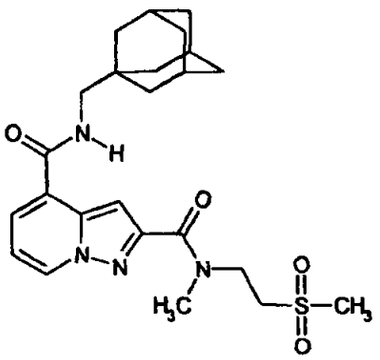
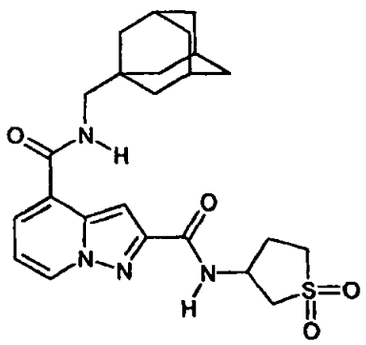
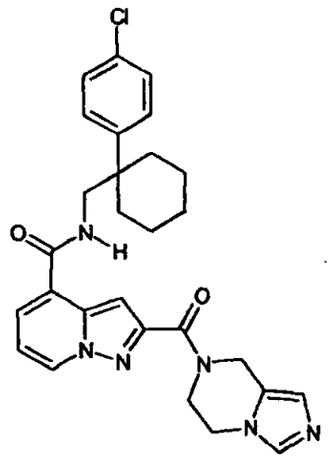
Quiral

283

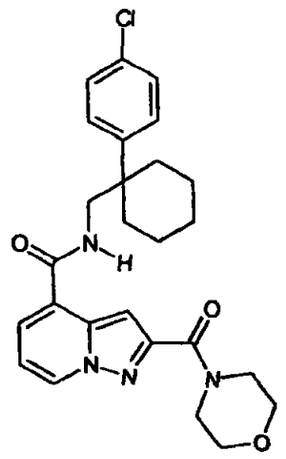
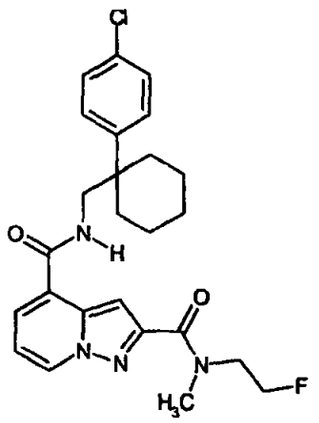
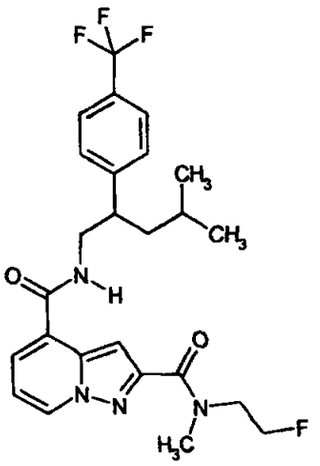
COMPUESTO		NOMBRE	MS	R_T	IC_{50}
72	 (Quiral	2-{[(3R)-3-aminopirrolidin-1-il]carbonil}-N-(3-ciclohexil-2-fenilpropil)pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida	474,4	1,27	*
73	 (Quiral	2-{[(3R)-3-aminopirrolidin-1-il]carbonil}-N-[4-metil-2-(4-metilfenil)pentil]pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida	461,5	1,41	*
74		4-N-(adamantan-1-ilmetil)-2-N-(2-fluoroetil)-2-N-metilpirazol[1,5-a]piridin-2,4-dicarboxamida	413,3	1,3	*
75		4-N-(adamantan-1 -ilmetil)-2-N-(2,2-difluoroetil)-2-N-metilpirazol[1,5-a]piridin-2,4-dicarboxamida	431,3	1,31	*

COMPUESTO		NOMBRE	MS	R_T	IC_{50}
76		4-N-(adamantan-1 -ilmetil)-2-N-metil-2-N-(2,2,2-trifluoroetil)pirazol[1,5-a]piridin-2,4-dicarboxamida	449,3	1,33	*
77		N-(adamantan-1-ilmetil)-2-{2-[(2-fluoroetil)(metil)amino]-2-oxoetil}pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida	427,3	1,29	*
78		N-(adamantan-1-ilmetil)-2-{2-[(2,2-difluoroetil)(metil)amino]-2-oxoetil}pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida	445,3	1,3	*
79		N-(adamantan-1-ilmetil)-2-{2-[metil(2,2,2-trifluoroetil)amino]-2-oxoetil}pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida	463,3	1,32	*

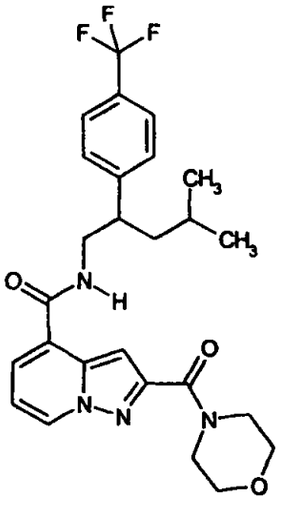
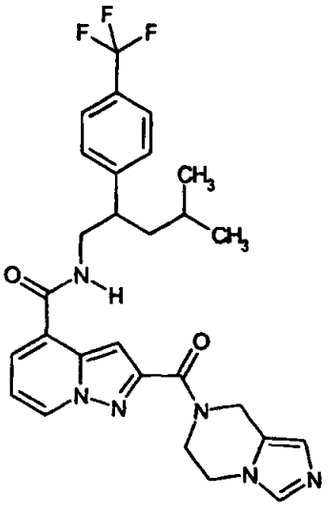
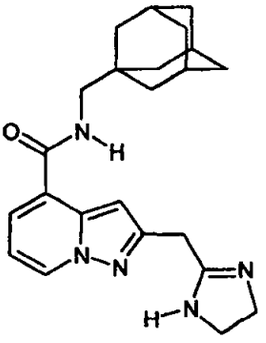
285

COMPUESTO		NOMBRE	MS	R_T	IC_{50}
80		2-{[(3R)-3-aminopirrolidin-1-il]carbonil}-N-{4-metil-2-[4-(trifluorometil)fenil]pentil}pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida	502,3	1,25	*
81		4-N-(adamantan-1-ilmetil)-2-N-metil-2-N-[2-(metilsulfonil)etil]pirazol[1,5-a]piridin-2,4-dicarboxamida	473,3	1,26	
82		4-N-(adamantan-1 -ilmetil)-2-N-(1,1-dioxidotetrahidro tiofen-3-il)pirazol [1,5-a]piridin-2,4-dicarboxamida	471,3	1,28	*
83		N-{[1-(4-clorofenil) ciclohexil] metil}-2-(5,6-dihidroimidazo [1,5-a]pirazin-7(8H)-ilcarbonil)pirazol [1,5-a]piridin-4-carboxamida	517,3	1,25	*

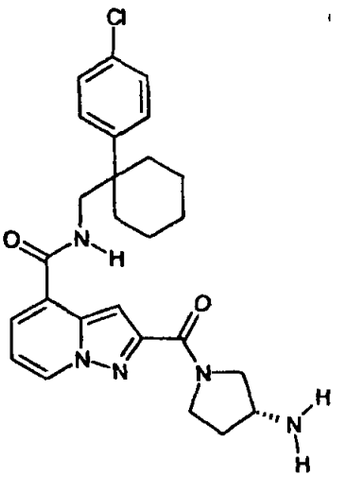
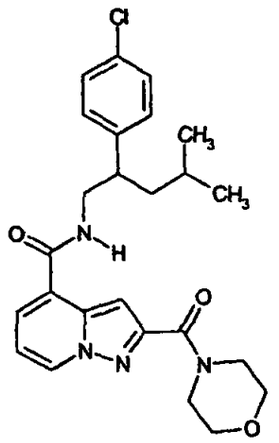
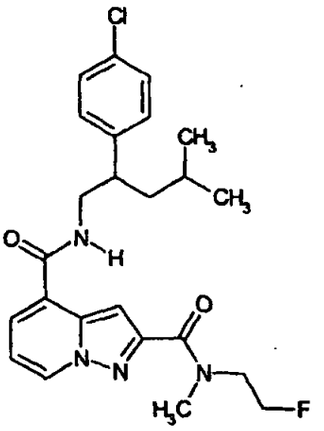
286

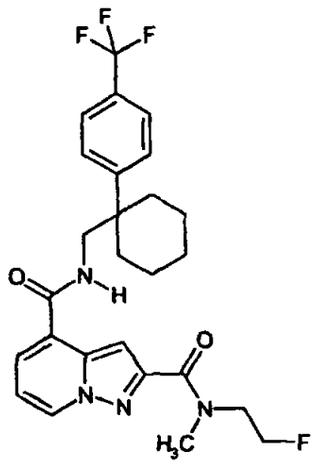
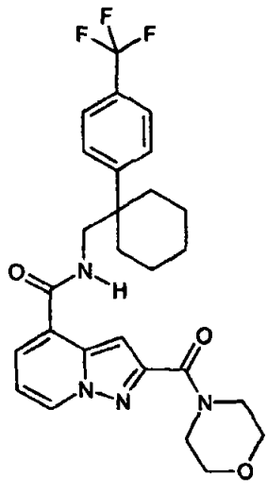
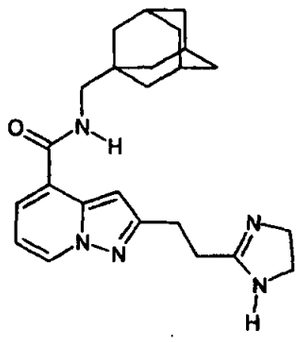
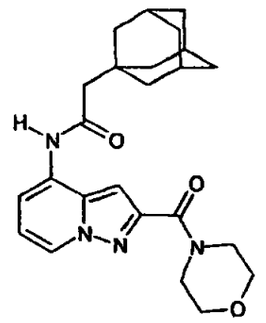
COMPUESTO		NOMBRE	MS	R_T	IC_{50}
84		N-{[1-(4-clorofenil)ciclohexil]metil}-2-(morfolin-4-ilcarbonil)pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida	481,3	1,33	*
85		4-N-{[1-(4-clorofenil)ciclohexil]metil}-2-N-(2-fluoroetil)-2-N-metilpirazol[1,5-a]piridin-2,4-dicarboxamida	471,3	1,33	*
86		2-N-(2-fluoroetil)-2-N-metil-4-N-{4-metil-2-[4-(trifluorometil)fenil]pentil}pirazol[1,5-a]piridin-2,4-dicarboxamida	493,3	1,34	*

287

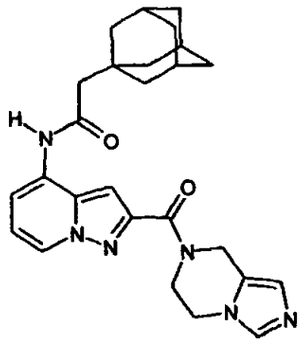
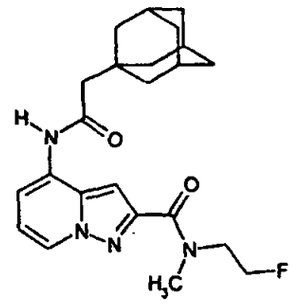
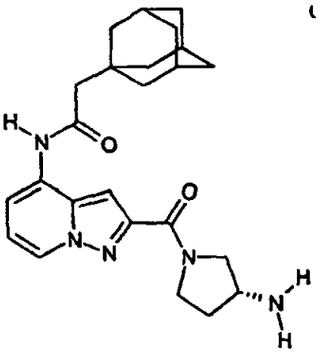
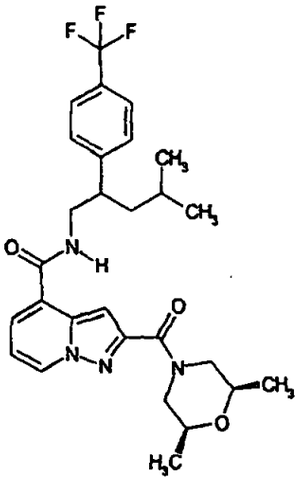
COMPUESTO		NOMBRE	MS	R_T	IC_{50}
87		N-{4-metil-2-[4-(trifluorometil)fenil]pentil}-2-(morfolin-4-ilcarbonil)pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida	503,3	1,33	*
88		2-(5,6-dihidroimidazo[1,5-a]pirazin-7(8H)-ilcarbonil)-N-{4-metil-2-[4-(trifluorometil)fenil]pentil}pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida	539,3	1,25	*
89		N-(adamantan-1-ilmetil)-2-(4,5-dihidro-1 H-imidazol-2-ilmetil)pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida	405,5	1,31	*

288

COMPUESTO		NOMBRE	MS	R_T	IC_{50}
90	 Quiral	2-{[(3R)-3-aminopirrolidin-1-il]carbonil}-N-{[1-(4-clorofenil)ciclohexil]metil}pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida	480,3	1,25	*
91		N-[2-(4-clorofenil)-4-metilpentil]-2-(morfolin-4-ilcarbonil)pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida	468,98	1,32	*
92		4-{[2-(4-cloro-fenil)-4-metil- pentil]amida} 2-[(2-fluoro-etil)-metil-amida] del ácido pirazol[1,5-a]piridin-2,4-dicarboxílico	458,96	1,33	*

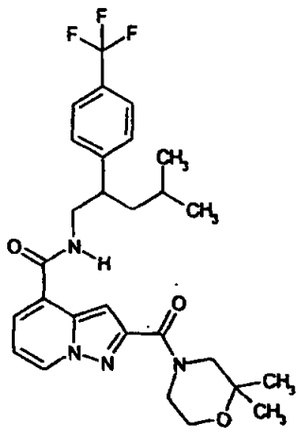
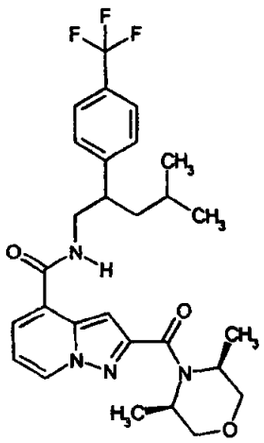
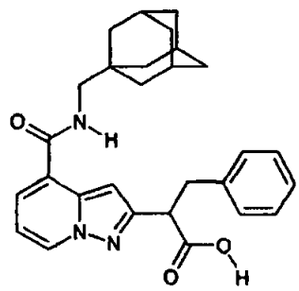
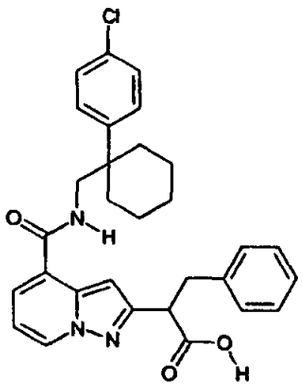
COMPUESTO		NOMBRE	MS	R_T	IC_{50}
93		2-[(2-fluoro-etil)-metil-amida]-4-{[1-(4-trifluorometil-fenil)-ciclohexilmetil]-amida} del ácido pirazol[1,5-a] piridin-2,4-dicarboxílico	504,52	1,33	*
94		2-(morfolin-4-ilcarbonil)-N-({1-[4-(trifluorometil)fenil] ciclohexil}metil) pirazol[1,5-a] piridin-4-carboxamida	514,54	1,33	*
95		N-(adamantan-1-ilmetil)-2-[2-(4,5-dihidro-1 H-imidazol-2-il)etil]pirazol[1,5-a]piridin-4-arboxamida	405,54	1,21	*
96		2-adamantan-1-il-N-[2-(morfolin-4ilcarbonil) pirazol[1, 5-a] piridin-4-il]acetamida	422,52	1,33	*

290

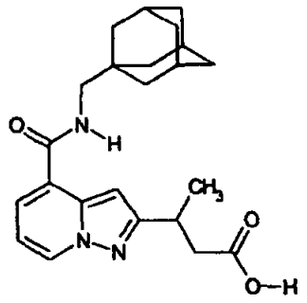
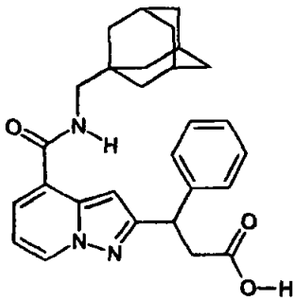
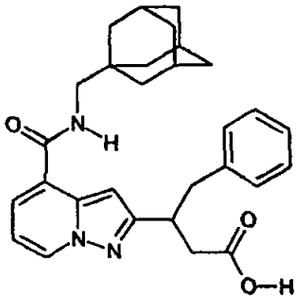
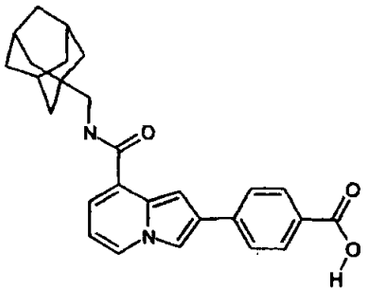
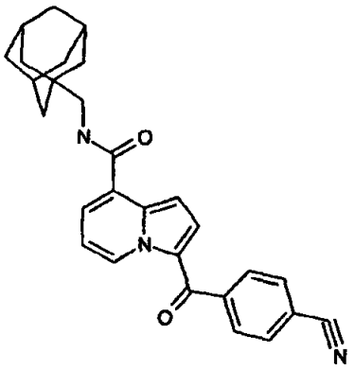
COMPUESTO		NOMBRE	MS	R_T	IC_{50}
97		2-adamantan-1 -il-N-[2-(5,6-dihidroimidazo [1,5-a]pirazin-7(8H)-ilcarbonil)pirazol[1,5-a]piridin-4-il]acetamida	458,56	1,23	*
98		4-[(adamantan-1-ilacetil)amino]-N-(2-fluoroetil)-N-metilpirazol[1,5-a]piridin-2-carboxamida	412,50	1,33	*
99		2-adamantan-1 -il-N-(2-{[(3R)-3-aminopirrolidin-1-il]carbonil}pirazol[1,5-a]piridin-4-il)acetamida	421,54	1,22	*
100		rel-2-{[(2R,6S)-2,6-dimetilmorfolin-4-il]carbonil}-N-{4-metil-2-[4-(trifluorometil)fenil]pentil}pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida	530,58	1,36	*

(Quiral

291

COMPUESTO		NOMBRE	MS	R_T	IC_{50}
101		2-[(2,2-dimetilmorfolin-4-il)carbonil]-N-{4-metil-2-[4-(trifluorometil)fenil]pentil}pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida	530,58	1,36	*
102		rel-2-{[(3R,5S)-3,5-dimetilmorfolin-4-il]carbonil}-N-{4-metil-2-[4-(trifluorometil)fenil]pentil}pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida	530,58	1,36	*
103		ácido 2-{4-[(adamantan-1-il metil)carbamoil]pirazol[1,5-a]piridin-2-il}-3-fenilpropanoico	457,56	1,30	*
104		ácido 2-[4-({[1-(4-clorofenil)ciclohexil]metil}carbamoil)pirazol[1,5a]piridin-2-il]-3fenilpropanoico	516,03	1,38	*

292

COMPUESTO	NOMBRE	MS	R_T	IC_{50}
105 	ácido 3-{4-[(adamantan-1 -ilmetil)carbamoil] pirazol[1,5-a] piridin-2-il}butanoico	395,49	1,32	*
106 	ácido 3-{4-[(adamantan-1-ilmetil)carbamoil] pirazol[1,5-a] piridin-2-il}-3-fenilpropanoico	457,56	1,36	*
107 	ácido 3-{4-[(adamantan-1 -ilmetil)carbamoil] pirazol[1,5-a] piridin-2-il}-4-fenilbutanoico	471,59	1,38	*
108 	ácido 4-{8-[(adamantan-1-ilmetil)carbamoil] indolizin-2-il} benzoico	428,11	1,58	*
109 	N-(adamantan-1-ilmetil)-3-(4-cianobenzoil)indolizin -8-carboxamida	438,23	1,39	*

293

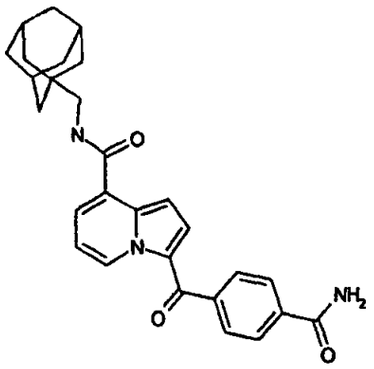
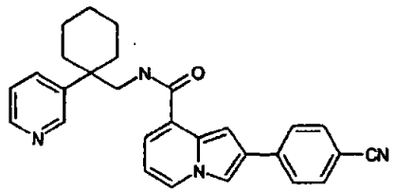
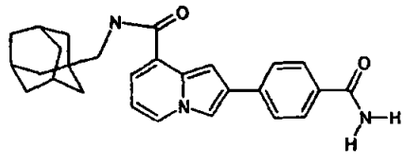
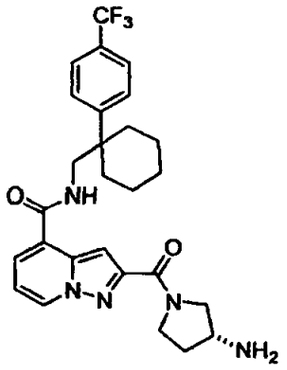
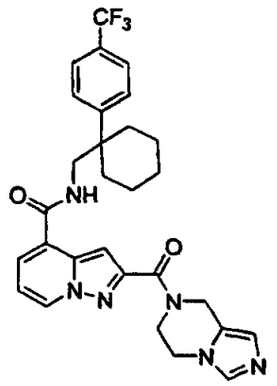
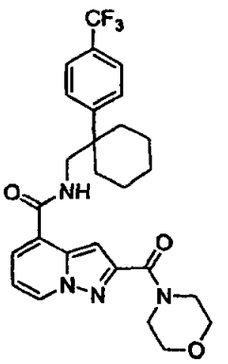
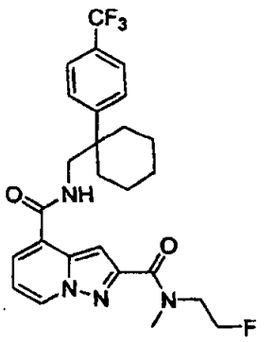
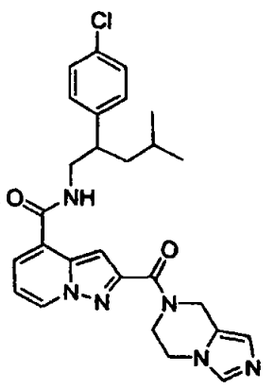
COMPUESTO		NOMBRE	MS	R_T	IC_{50}
110		N-(adamantan-1-il metil)-3-(4-carbamoilbenzoil) indolizin-8-carboxamida	456,21	1,33	*
111		2-(4-cianofenil)-N-[(1-piridin-3-ilciclohexil)metil] indolizin-8-carboxamida	435,20	1,17	
112		N-(adamantan-1-ilmetil)-2-(4-carbamoilfenil) Indolizin-8-carboxamida	428,22	1,31	*

Tabla II

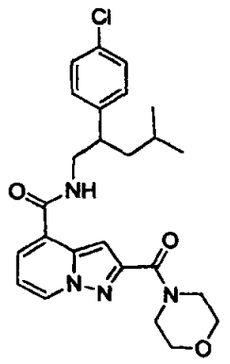
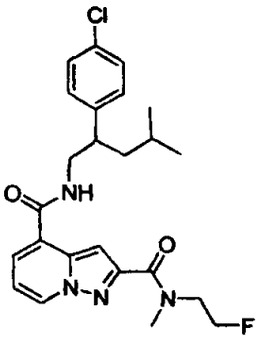
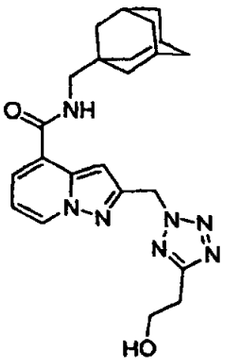
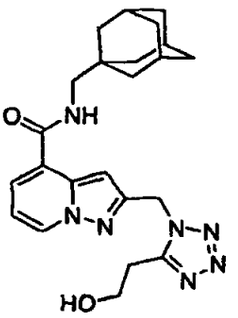
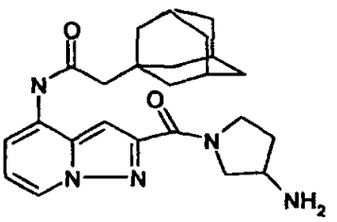
Representantes Adicionales De Análogos de Amidas Heteroarílicas

Compuesto		Nombre
120		(R)-2-(3-aminopirrolidin-1 -carbonil)-N-((1-(4-(trifluorometil) fenil)ciclohexil)metil)H-pirazol [1,5-a]piridin-4-carboxamida

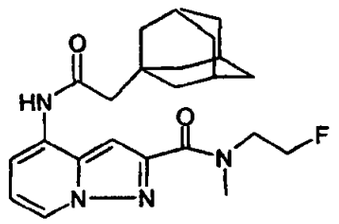
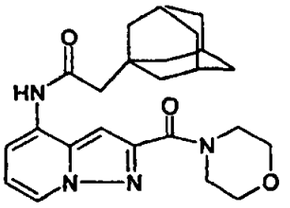
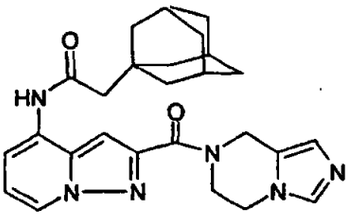
294

Compuesto	Nombre
121 	2-(5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,5-a]pirazin-7-carbonil)-N-((1-(4-(trifluorometil)fenil)ciclohexil) metil)H-pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida
122 	2-(morfolin-4-carbonil)-N-((1-(4-(trifluorometil)fenil)ciclohexil) metil)H-pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida
123 	2-[(2-fluoro-etil)-metil-amida]4-{[1-(4-trifluorometil-fenil)-ciclohexilmetil]-amida}del ácido pirazol[1,5-a]piridin-2,4-dicarboxílico
124 	N-(2-(4-clorofenil)-4-metilpentil)-2-(5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,5-a]pirazin-7-carbonil)H-pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida

295

Compuesto	Nombre
125 	N-(2-(4-clorofenil)-4-metilpentil)-2-(morfolin-4-carbonil)H-pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida
126 	2-[(2-fluoro-etil)-metil-amida] 4-{[4-metil-2-(4-trifluorometil-fenil) -pentil]-amida}del ácido pirazol [1,5-a]piridin-2,4-dicarboxílico
127 	N-(adamantan-1 -ilmetil)-2-{[5-(2-hidroxietil)-2H-tetrazol-2-il]metil}pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida
128 	N-(adamantan-1 -ilmetil)-2-{[5-(2-hidroxietil)-1 H-tetrazol-1-il]metil}pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida
129 	N-[2-(3-Amino-pirrolidin-1 -carbonil)-pirazol [1,5-a] piridin-4-il]-2-(3-etil-biciclo[3.3.1]non-1-il)-acetamida

296

Compuesto	Nombre
130 	(2-fluoro-etil)-metil-amida del ácido 4-[2-(3-etilbiciclo[3.3.1]non-1-il)-acetilamino]-pirazol[1,5-a] piridin-2-carboxílico
131 	2-(3-Etil-biciclo[3.3.1]non-1-il)-N-[2-(morfolin-4-carbonil)-pirazol[1,5-a]piridin-4-il]-acetamida
132 	N-[2-(5,6-Dihidro-8H-imidazo[1,5-a] pirazin-7-carbonil)-pirazol[1,5-a] piridin-4-il]-2-(3-etil-biciclo [3.3.1]non-1-il)-acetamida

EJEMPLO 4

Ensayos con $P2X_7$

Este ejemplo ilustra los ensayos representativos para emplear en la evaluación de compuestos de prueba para actividad agonista y antagonista.

A. ENSAYO DE ALTO RENDIMIENTO PARA MOVILIZACIÓN DEL CALCIO POR EL $P2X_7$

Se cultivan células SH-SY5Y, ATCC número CRL-2266 (American Type Culture Collection, Manassas, Va) en medio DMEM/Alto suplementado con FBS al 10% y HEPES 10 mM (Invitrogen Corp., Carlsbad, CA) en CO_2, 5%, y a 37°C. El día previo al experimento, las células se colocan en la placa a una densidad de 100000 células/celda en una placa TC de 96 celdas negras/transparentes (Corning® Costar®, Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO). Al comienzo del experimento se retira el medio de

cultivo y se incuban las células con 50 µl de colorante Fluo-4 AM 2.3 µM (Invitrogen Corp.) en la solución del ensayo (KCl 5 mM, $NaH_2PO_4H_2O$ 9,6 mM, HEPES 25 mM, Sacarosa 280 mM, Glucosa 5 mM, y $CaCl_2$ 0,5 mM; el pH se ajusta a 7,4 con NaOH) durante una hora a 37°C. Después de una hora de incubación con el colorante, las celdas se enjuagan una vez con 50 µl de la solución de ensayo y luego se incuban por una hora a temperatura ambiente con 100 µl de la solución de ensayo que contiene el compuesto de prueba. La concentración final del compuesto de prueba generalmente está en el rango de 1 a 2500 nM; para las células del control positivo, no se añade compuesto de prueba. Después de una hora de incubación, las placas se transfieren a un instrumento FLIPR^{TETRA} (Molecular Devices, Sunnyvale, CA) para el análisis de movilización del calcio.

Para determinar la actividad antagonista se transfieren 50 µl de agonista del $P2X_7$ (2'(3')-O-(4-benzoil-benzoil)adenosin 5'-trifosfato (BzATP; Sigma-Aldrich) a la solución de ensayo usando el FLIPR en la placa, de modo tal que la concentración final de agonista es de 80 µM (alrededor de EC50). Para las células del control negativo, se añaden, en esta etapa, 50 µl de la solución sin agonista. Se mide entonces la señal fluorescente pico durante un periodo de 2 minutos.

Los datos se analizan como sigue. Primero, el promedio de la respuesta unitaria fluorescente (RFU) relativa máxima de las celdas de control negativas (son agonista) se resta de la respuesta máxima detectada para cada una de las otras celdas

del experimento. Segundo, se calcula el promedio de la respuesta RFU máxima para las celdas de control positivo (celdas con agonista). Luego se calcula el porcentaje de inhibición para cada compuesto probado usando la ecuación:

Porcentaje de inhibición = 100-100 x (Señal Pico en las Células de Prueba / Señal Pico en las Células de Control)

Los datos de % de inhibición se grafican en función de la concentración de compuesto de prueba y la IC_{50} del compuesto de prueba se determina usando, por ejemplo, el programa de computador KALEEDAGRAPH (Synergy Software, Reading, PA) para el mejor ajuste de los datos a la ecuación:

$$y = m_1*(1/(1+(m_2/m_0)^{m3}))$$

donde **y** es el porcentaje de inhibición, m_0 es la concentración del agonista, m_1 es la máxima RFU, m_2 corresponde a la IC_{50} del compuesto de prueba (la concentración requerida para proporcionar una disminución del 50%, relativa a la respuesta observada en presencia de agonista y sin antagonista) y m_3 es el coeficiente Hill. Alternativamente la IC_{50} del compuesto de prueba se determina usando una regresión lineal en la cual **X** es ln(concentración del compuesto de prueba) y **y** es ln(inhibición por ciento/(100 - inhibición por ciento)). Los datos con porcentaje de inhibición mayor que el 90% o menor que el 15% se rechazan y no se usan en la regresión. La IC_{50} calculada de esta manera es $e^{(-\text{intersección/pendiente})}$. Para antagonistas del $P2X_7$, la IC_{50} calculada está preferiblemente por debajo de 20 micromolar, más preferiblemente por debajo de 10 micromolar, aún más

preferiblemente por debajo de 5 micromolar y con preferencia máxima por debajo de 1 micromolar.

Se realizan ensayos similares en ausencia de agonista añadido para determinar la actividad agonista de los compuestos de prueba. Dentro de tales ensayos la habilidad del compuesto de prueba para actuar como un agonista del $P2X_7$ se determina midiendo la respuesta fluorescente producida por el compuesto de prueba en función de la concentración del compuesto. Los antagonistas del $P2X_7$ que exhiben actividad agonista no detectable no producen una respuesta fluorescente detectable a una concentración de 2500 nM

B. ENSAYOS ELECTROFISIOLÓGICOS CON $P2X_7$

Se cultivan células SH-SY5Y, en medio DMEM/Alto suplementado con FBS al 10% y HEPES 10 mM (Invitrogen Corp., Carlsbad, CA) en CO_2 AL 5% y a 37°C y el día anterior al experimento se dividen (y colocan) sobre cubreobjetos circulares de 12 mm recubiertos con Poli-D-Lisina (PDL) (BD Biosciences, San Jose, CA) (que están) en cápsulas de 35 mm a una densidad de 130K células/cápsula. La totalidad de los registros de las pinzas del voltaje de las células son hechos con el amplificador Axopatch-200B (Axon Instruments, Foster City, CA). Los electrodos de registro se sacan de pipetas de borosilicato (World Precision Instruments, Sarasota, FL) sobre un halador horizontal (Sutter Instrument Modelo P-87) y tienen resistencias en el rango de 2 a 3 MΩ cuando se rellenan con la solución interna. *Todos* los protocolos para el voltaje se generan usando el programa para computador pClamp8 (Axon

Instruments). Los datos se digitalizan a 1 o 5 KHz y se registran en un PC para su análisis posterior. Los datos se analizan usando Clamfit (Axon Instruments), y los programas para computador Excel (Microsoft, Redmond, WA), y Origin (MicroCal, LLC; Northampton, MA). Todos los registros de la célula completa se llevan a cabo a temperatura ambiente. La solución interna contiene (en mM): 100 de KF, 40 de KCl, 5 de NaCl, 10 de EGTA y 10 de HEPES (pH = 7,4, ajustado con KOH). La solución externa contiene 70 mM de NaCl, 0,3 mM de $CaCl_2$, 5 mM de KCl, 20 mM de HEPES, 10 mM de glucosa, y 134 mM de sacarosa (pH = 7,4, ajustado con NaOH). Todos los productos químicos son de Sigma, a menos que se declare lo contrario.

El $P2X_7$ es activado por 200 μM de BzATP, agonista del $P2X_7$. Con un potencial mantenido a -80 mV, la corriente interna activada se registra en presencia y ausencia del compuesto de prueba. Luego el porcentaje de inhibición para cada compuesto de prueba se calcula usando la ecuación:

% de inhibición = 100 - 100 x (Amplitud de la Corriente en el Compuesto/ Amplitud de la Corriente en el Control).

Para determinar en forma electrofisiológica la IC_{50} de los compuestos de prueba para el $P2X_7$, se prueban varias concentraciones del compuesto, y sus inhibiciones sobre las corrientes del $P2X_7$, se calculan como se hizo anteriormente. La curva de Dosis-Respuesta se ajusta en forma óptima usando el programa para computador Origin (Microcal, MA) con la siguiente ecuación:

Porcentaje de Inhibición = $100/(1 + (IC_{50}/C)^N)$

Donde **C** es la concentración del antagonista, **N** es el coeficiente de Hill, e **IC_{50}** representa el valor de la IC_{50} del compuesto contra el $P2X_7$.

EJEMPLO 5

Ensayo de Hiperalgesia Mecánica (presión de pata) Inducida por Carragenina para Determinar el Alivio del Dolor

Este ejemplo ilustra un método representativo para evaluar el grado de alivio del dolor proporcionado por un compuesto de prueba.

Machos adultos de ratas Sprague Dawley (200-300 g; obtenidos de Harlan Sprague Dawley, Inc., Indianapolis, IN) fueron alojados en un ciclo de luz/oscuridad de 12 h, con acceso al alimento y al agua *ad libitum*. Para el ensayo, todos los animales se habitúan una vez, se referencian dos veces y se ensayan una vez, con cada procedimiento desarrollándose en un día separado. Previamente a cada día de procedimiento, se permite a los animales aclimatarse por lo menos 1 hora en el salón de prueba antes de iniciar el procedimiento. Para que se habitúen, cada animal se restringe poco a poco con cada pata trasera extendida consecutivamente en frente del animal como es necesario para la prueba. Este procedimiento se ejecuta alternando las patas traseras y repitiendo tres veces para cada pata trasera. Luego los animales se someten a una primera prueba basal, a una segunda prueba basal y al ensayo en días consecutivos. Para cada prueba basal el animal se restringe como en la sesión de habituación y la pata se prueba usando el aparato para prueba

por tensión de la pata (Digital Randall Selitto, IITC Inc., Woodland Hills, Ca).

A los animales se les hacen las pruebas basales y los ensayos en grupos de diez, a cada animal se le hace el ensayo una vez en las patas traseras izquierda y derecha, seguido del siguiente animal consecutivo. Este procedimiento se repite tres veces para un total de tres mediciones en cada pata trasera. Si cualquier lectura individual es drásticamente diferente (variación por más de 100 g) de las otras dos en una pata trasera dada, la pata trasera se ensaya de nuevo por 4ª vez, y se usa el promedio de los tres resultados más consistentes. En el día de la prueba todos los animales son inyectados intraplantarmente con 0,1 ml de carragenina al 0,5% - 1,5% (en disolución salina) tres horas antes de la prueba. Los compuestos o el vehículo de prueba pueden ser administrado por varias vías en varios horarios antes de la prueba, pero para cualquier ensayo en particular, las vías y los horarios son iguales para los animales de cada grupo de tratamiento al que se administra el compuesto de prueba (una dosis diferente del compuesto de prueba puede ser administrada para cada tal grupo) y aquellos en el grupo de tratamiento a los que se les administra el vehículo de control. Si un compuesto se administra oralmente los animales son privados de alimento en la tarde anterior a la prueba. Como en las pruebas basales, cada pata trasera se ensaya tres veces y los resultados se registrados para análisis.

La hipersensibilidad de los valores de nocicepción se calcula para cada grupo en tratamiento como la media de los resultados de los gramos de fuerza para la pata izquierda en el día de la prueba (resultados solo de la pata izquierda o LFO). La significación estadística entre los grupos en tratamiento se determina haciendo un ANOVA sobre los resultados LFO seguido con una diferencia significativa mínima (LSD) de la prueba *post hoc*. Un $p<0,05$ se considera que es una diferencia estadísticamente significativa.

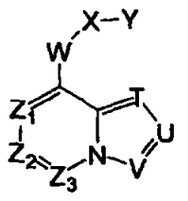
Se dice que los compuestos alivian el dolor en este modelo si resultan en una reducción en los valores de la hipersensibilidad de la nocicepción estadísticamente significativa comparados con los del vehículo de control, determinados como se describió anteriormente, cuando se administra (0,01 - 50 mg/kg, oralmente, parenteralmente o tópicamente) inmediatamente antes de la prueba como un bolo sencillo, o para varios días: una o dos o tres veces diariamente antes de la prueba.

304

REIVINDICACIONES

Lo que se reivindica es:

1. Un compuesto de la fórmula:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

T, U y V se seleccionan independientemente entre CR_3, CR_A Y N, tal que

(i) exactamente uno de T, U y V es CR_A; y

(ii) si X es CH_2, Y es fenilo, y U y V son ambos carbonos sustituidos, entonces T no es N;

W es $-C(=O)NR_4-$, $-NR_4C(=O)-$ o $NR_4-NR_4-C(=O)-$;

X está ausente o es alquileno C_1-C_6 que es sustituido con de 0 a 4 sustituyentes elegidos independientemente entre:

i) alquilo C_1-C_4, (cicloalquilo C_1-C_8)alquilo C_0-C_2 y fenilalquilo C_0-C_2;

ii) sustituyentes que se toman conjuntamente para formar un anillo cicloalquilo o heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros; y

iii) sustituyentes que se toman conjuntamente con R_4 para formar un heterocicloalquilo de 4- a 7- miembros;

y es cicloalquilo C_3-C_{16}, heterocicloalquilo de 4- a 16-miembros, arilo de 6- a 16- miembros o heteroarilo de 5- a 16- miembros, cada uno de los cuales se sustituye con de 0 a 6 sustituyentes elegidos independientemente entre hidroxi, halógeno, ciano, amino, nitro, oxo, aminocarbonilo, aminosulfonilo, COOH, alquiloC_1-C_6, alquenilo C_2-C_6, alquinilo C_2-C_6a, haloalquilo C_1-C_6, hidroxialquiloC_1-C_6, aminoalquilo C_1-C_6, alcoxiC_1-C_6, haloalcoxiC_1-C_6, éter de alquilo C_2-C_6, alcanoilo C_1-C_6, alquilsulfoniloC_1-C_6, (cicloalquilo C_3-C_7) alquilo C_0-C_4, mono- o di-(alquilC_1-C_6)amino, alcanoilamino C_1-C_6, mono- o di-(alquilC_1-C_6)aminocarbonilo, mono o di (alquilC_1-C_6)aminosulfonilo y (alquilC_1-C_6)sulfonilamino;

Z_1 y Z_3 son independientemente N o CR_2;

Z_2 es N, CR_2 o CR_A;

Cada R_2 y cada R_3 se elige independientemente entre hidrógeno, halógeno, ciano, amino, nitro, aminocarbonilo, aminosulfonilo, COOH, alquilo C_1-C_6, alquenilo C_2-C_6, alquinilo C_2-C_6, haloalquilo C_1-C_6, hidroxialquilo C_1-C_6, aminoalquilo C_1-C_6, alcoxi C_1-C_6, haloalcoxi C_1-C_6, alcanoilo C_1-C_6, alquil C_2-C_6 éter, (cicloalquilC_3-C_7)alquilo C_0-C_4, mono- o di-(alquilC_1-C_6)amino, alquilsulfonilo C_1-C_6, alcanoilamino C_1-C_6, mono- o di-(alquilC_1-C_6)aminocarbonilo, mono- o di-(alquilC_1-C_6)aminosulfonilo y (alquilC_1-C_6)sulfonilamino;

Cada R_4 es independientemente hidrógeno, alquilo C_1-C_6, (CicloalquilC_3-C_8)alquilo C_0-C_2 o se toman conjuntamente con

306

un sustituyente de X para formar un heterocicloalquilo de 4- a 7-miembros;

R_A es un grupo de la fórmula -L-A-M, en donde:

L está ausente o es alquileno C_1-C_6 que es opcionalmente modificado por el reemplazo de un enlace sencillo carbono-carbono con un doble o triple enlace carbono-carbono, cuyo alquileno está opcionalmente sustituido con oxo, -COOH, -SO_3H, -SO_2NH_2, -PO_3H_2, tetrazol u oxadizaolona;

A está ausente o es CO, O, NR_6, S, SO, SO_2, $CONR_6$, NR_6CO, (cicloalquilC_4-C_7)alquileno C_0-C_4 o (heterocicloalquil de 4- a 7-miembros)alquileno C_0-C_4; en donde R_6 es hidrógeno o alquilo C_1-C_6;

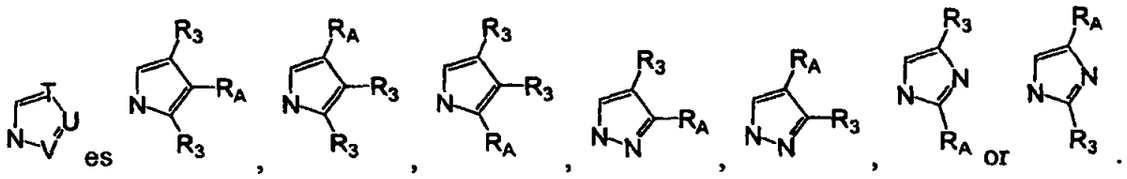
y M es:

(i) hidroxi, ciano, amino, aminocarbonilo, aminosulfonilo o COOH; o

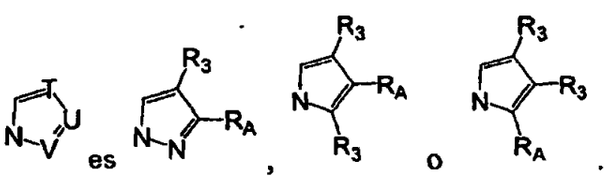
(ii) halo alquilo C_1-C_6, alcoxi C_1-C_6, carbociclo de 5- a 10-miembros, heterociclo de 4- a 10-miembros, alcanoiloxi C_1-C_6, alcanoilamino C_1-C_6, alquilsulfonilo C_1-C_6, alquilsulfonilamino C_1-C_6, alquilsulfoniloxi C_1-C_6, mono- o di-alquilamino C_1-C_6, mono- o di-(alquilC_1-C_6)aminosulfonilo, o mono- o di-(alquilC_1-C_6)aminocarbonilo; cada uno de los cuales es opcionalmente substituido y cada uno de los cuales es preferiblemente sustituido con de 0 a 4 sustituyentes independientemente elegidos entre oxo, amino, halógeno, hidroxi, ciano, aminocarbonilo, aminosulfonilo, COOH, alquilo C_1-C_6, hidroxi alquilo C_1-C_6, halo alquilo C_1-C_6, alcoxi C_1-C_6, haloalcoxi C_1-C_6, alquil C_2-C_6 éter,

alcanoilamino C_1-C_6, mono- o di-(alquilC_1-C_6)amino, alquilsulfonilo C_1-C_6, alquilsulfonilamino C_1-C_6, mono-o di-(alquilC_1-C_6)aminosulfonilo, mono- o di-(alquilaminoC_1-C_6)carbonilo, y heterociclo de 4- a 7- miembros.

2. Un compuesto o su sal de acuerdo con la reivindicación 1, en donde:



3. Un compuesto o su sal de acuerdo con la reivindicación 2 en donde



4. Un compuesto o su sal de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde cada R_3 es independientemente hidrógeno o alquilo C_1-C_4.

5. Un compuesto o su sal de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde R_A es hidroxialquilo C_1-C_6, cianoalquilo C_1-C_6, alquenilo C_2-C_6, alquil C_2-C_6 éter, fenil alquilo C_0-C_4, (heterociclo de 4- a 10- miembros)alquilo C_0-C_4, (alquilsulfonilaminoC_1-C_6)alquilo C_0-C_4, (alcanoiloxi C_1-C_6) alquilo C_0-C_4, (alquilsulfoniloxi C_1-C_6) alquilo C_0-C_4,

(mono- o di- alquilamino C_1-C_6) alquilo C_0-C_4, y (mono- o di-alquilaminocarbonil) alquilo C_0-C_4; cada uno de los cuales es sustituido con de 0 a 4 sustituyentes elegidos independientemente entre:

(i) oxo, halógeno, amino, ciano, hidroxi, aminocarbonilo, aminosulfonilo y COOH; y

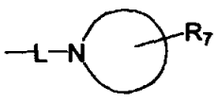
(ii) alquilo C_1-C_6, hidroxi alquilo C_1-C_6, alcoxi C_1-C_6, alquil C_2-C_6 éter, alcanoilamino C_1-C_6, mono- o di-(alquilC_1-C_6)amino, alquilsulfonilo C_1-C_6, alquilsulfonilamino C_1-C_6, mono- o di-alquilaminocarbonilo C_1-C_6, mono- o di-alquilaminosulfonilo C_1-C_6, fenilo y heterociclo de 4- a 7-miembros ; cada uno de los cuales es sustituido con de 0 a 4 sustituyentes elegidos independientemente entre halógeno, hidroxi, amino, oxo, aminocarbonilo, aminosulfonilo, COOH, alquilo C_1-C_4 y halo alquilo C_1-C_4.

6. Un compuesto o su sal de acuerdo con reivindicación 5, en donde R_A es hidroxialquilo C_1-C_6, cianoalquilo C_1-C_6, ciano alquenilo C_2-C_6, alquil C_2-C_6 éter, (mono- o di-alquilaminoC_1-C_6) alquilo C_0-C_4, (mono- o di-alquilaminocarboniloC_1-C_6) alquilo C_0-C_4, o (heterociclo de 4- a 7- miembros) alquilo C_1-C_4; cada uno de los cuales es sustituido con de 0 a 4 sustituyentes elegido independientemente entre amino, hidroxi, oxo, halógeno, aminocarbonilo, aminosulfonilo, alquilo C_1-C_6, hidroxialquilo C_1-C_6, alcoxi C_1-C_6, alquil C_2-C_6 éter, mono- o di-(alquilC_1-C_6)amino, mono- o di-alquilaminocarbonilo C_1-C_6, alquilsulfonilo C_1-C_6,

309

alquilsulfonilamino C_1-C_6, heterocicloalquilo de 4- a 7-miembros, y heteroarilo de 5- o 6-miembros.

7. Un compuesto o su sal de acuerdo con reivindicación 5, en donde R_A es un grupo de la fórmula:



en donde:

L está ausente o es alquileno C_1-C_6 que es opcionalmente sustituido con oxo;



representa un heterocicloalquilo de 4- a 7-miembros que es opcionalmente fusionado al a fenilo o a un heteroarilo de 5- o 6-miembros; y

R_7 representa de 0 a 4 sustituyentes elegidos independientemente entre:

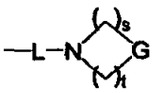
(i) hidroxi, amino, oxo, aminocarbonilo, aminosulfonilo y COOH;

(ii) alquilo C_1-C_6, mono- o di-(alquilC_1-C_6)aminoalquilo C_0-C_4, alquilsulfonilC_1-C_6alquilo C_0-C_4 , alquilsulfonilaminoC_1-C_6alquilo C_0-C_4, y heterociclo de 4- a 7-miembros ; cada uno de los cuales es sustituido con de 0 a 4 sustituyentes elegidos independientemente entre halógeno, hidroxi, amino, oxo, aminocarbonilo, aminosulfonilo, COOH, alquilo C_1-C_6, alcoxi C_1-C_6, mono- o di-(alquil C_1-C_6)amino, y alquilsulfonilamino C_1-C_6;

(iii) sustituyentes que se toman conjuntamente para formar un puente de la Fórmula $-(CH_2)_q-P-(CH_2)_r-$, en donde q y r son independientemente 0 o 1 y P es CH_2, O, NH o S; y

(iv) sustituyentes que se toman conjuntamente para formar un anillo heterocicloalquilo espiro de 4- a 7-miembros que es sustituido con de 0 a 2 sustituyentes elegidos independientemente entre oxo y alquilo C_1-C_4.

8. Un compuesto o su sal de acuerdo con la reivindicación 7, en donde R_A es un grupo de la formula:



en donde:

L es alquileno C_1-C_2 que es opcionalmente sustituido con oxo;

G es CHR_8, NH u O;

s y t son independientemente 0, 1, 2, 3 o 4, tal que la suma de s y t está en el rango de 2 a 5; y R_8 es:

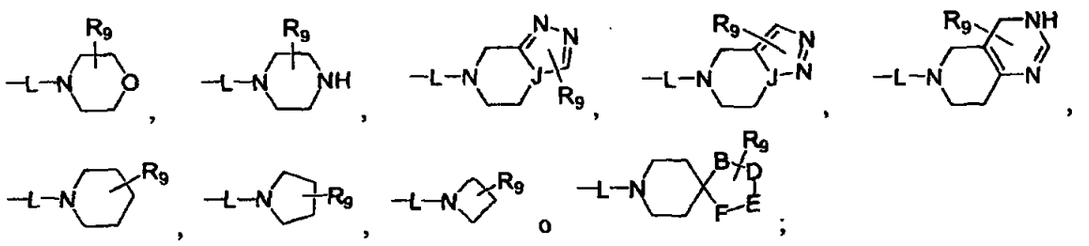
(i) hidrógeno, amino, aminocarbonilo, aminosulfonilo o COOH; o

(ii) alquilo C_1-C_6, mono- o di-(alquilo C_1-C_6)amino alquilo C_0-C_4, alquilsulfoniloC_1-C_6alquiloC_0-C_4, alquilsulfonilamino C_1-C_6 alquilo C_0-C_4, o heterociclo de 4- a 7-miembros; cada uno de los cuales es sustituido con de 0 a 4 sustituyentes elegidos independientemente entre halógeno, hidroxi, amino, oxo, aminocarbonilo, aminosulfonilo, COOH, alquilo C_1-C_6,

311

alcoxi C_1-C_6, mono- o di-(alquil C_1-C_6)amino, y alquilsulfonilamino C_1-C_6.

9. Un compuesto o su sal de acuerdo con reivindicación 7, en donde R_A es:



en donde:

J es CH o N;

B, D, E y F se eligen independientemente entre CH2, NH y O; y

R_9 representa de 0 a 2 sustituyentes elegidos independientemente entre:

(i) amino, aminocarbonilo y COOH; y

(ii) alquilo C_1-C_6, mono- o di-(alquilC_1-C_6)aminoalquilo C_0-C_2, alquilsulfonilo C_1-C_6 y alquilsulfonilamino C_1-C_6; cada uno de los cuales es sustituido con de 0 a 3 sustituyentes elegidos independientemente entre halógeno, hidroxi, oxo y COOH.

10. Un compuesto o su sal de acuerdo con la reivindicación 5, en donde R_A es alquilo C_1-C_6, alquenilo C_2-C_6, alquil C_2-C_6 éter, o mono- o di-(alquilC_1-C_6)aminoalquilo C_0-C_4, cada uno de los cuales está sustituido con de 1 a 4 sustituyentes elegidos independientemente entre halógeno, hidroxi, ciano, amino,

oxo, aminocarbonilo, aminosulfonilo, COOH, alquilo C_1-C_6, alcoxi C_1-C_6, mono- o di-(alquilC_1-C_6)amino, alcanoilamino C_1-C_6, alquilsulfonilo C_1-C_6, alquilsulfoniloxi C_1-C_6, alquilsulfonilamino C_1-C_6, fenilo que está opcionalmente sustituido con halógeno o alquilo C_1-C_4, y heterociclo de 4- a 7-miembros que está opcionalmente sustituido con alquilo C_1-C_4.

11. Un compuesto o su sal de acuerdo con la reivindicación 10, en donde R_A es mono-(alquil C_1-C_6)aminoalquilo C_0-C_2 o alquil C_2-C_6 éter, cada uno de los cuales está sustituido con de 1 a 4 sustituyentes elegidos independientemente entre hidroxi, halógeno, oxo, COOH, alquilo C_1-C_4 y alcoxi C_1-C_4.

12. Un compuesto o su sal de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde:

L no está ausente;

A está ausente; y

M es fenilo o un heteroarilo de 5- o 6-miembros, cada uno de los cuales está sustituido con de 0 a 4 sustituyentes elegidos independientemente entre oxo, amino, halógeno, hidroxi, ciano, aminocarbonilo, aminosulfonilo, COOH, alquilo C_1-C_6, hidroxialquilo C_1-C_6, haloalquilo C_1-C_6, alcoxi C_1-C_6, haloalcoxi C_1-C_6, alquilC_2-C_6 éter, alcanoilamino C_1-C_6, mono- o di-(alquilC_1-C_6)amino, alquilsulfonilo C_1-C_6, alquilsulfonilamino C_1-C_6, mono- o di-(alquilC_1-C_6)aminosulfonilo, mono- o di-(alquilaminoC_1-C_6)carbonilo, y heterociclo de 4- a 7-miembros.

13. Un compuesto o su sal de acuerdo con cualquiera de las

reivindicaciones 1-4, en donde:

L es alquileno C_0-C_3 que está opcionalmente sustituido con oxo o COOH;

A está ausente; y

M es fenilo que está sustituido con amino, ciano, aminocarbonilo, aminosulfonilo, COOH o alquilo C_1-C_6.

14. Un compuesto o su sal de acuerdo cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde:

L es alquileno C_1-C_2 que está opcionalmente sustituido con oxo;

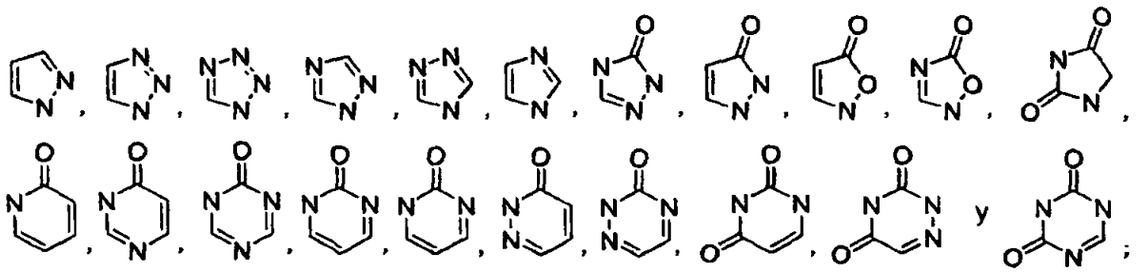
A está ausente; y

M es mono- o di-(alquilC_1-C_6)amino que está sustituido con un heteroarilo de 5- o 6- miembros, cada uno de los cuales, en heteroarilo, está sustituido con de 0 a 4 sustituyentes elegidos independientemente entre oxo, amino, halógeno, hidroxi, ciano, aminocarbonilo, aminosulfonilo, COOH, alquilo C_1-C_6, hidroxialquilo C_1-C_6, haloalquilo C_1-C_6, alcoxi C_1-C_6, haloalcoxi C_1-C_6, alquil C_2-C_6 éter, alcanoilamino C_1-C_6, mono- o di-(alquilC_1-C_6)amino, alquilsulfonilo C_1-C_6, alquilsulfonilamino C_1-C_6, mono- o di-(alquilC_1-C_6)aminosulfonilo, mono- o di-(alquilaminoC_1-C_6)carbonilo, y heterociclo de 4- a 7-miembros.

15. Un compuesto o su sal de acuerdo con la reivindicación 12 o la reivindicación 14, en donde el heteroarilo de 5- o 6- miembros es:

(i) piridilo o pirimidinilo, cada uno de los cuales está sustituido con de 0 a 4 sustituyentes elegidos independientemente entre oxo, amino, halógeno, hidroxi, ciano, aminocarbonilo, aminosulfonilo, COOH, alquilo C_1-C_6, hidroxialquilo C_1-C_6, alcoxi C_1-C_6, alquil C_2-C_6 éter, alcanoilamino C_1-C_6, mono- o di-(alquilC_1-C_6)amino, alquilsulfonilo C_1-C_6, alquilsulfonilamino C_1-C_6, mono- o di-(alquilC_1-C_6)aminosulfonilo, mono- o di-(alquilaminoC_1-C_6) carbonilo, y heterociclo de 4- a 7-miembros: o

(ii) un heteroarilo elegido entre:



cada uno de los cuales está sustituido con de 0 a 2 sustituyentes elegidos independientemente entre amino, halógeno, hidroxi, ciano, aminocarbonilo, aminosulfonilo, COOH, alquilo C_1-C_6, hidroxialquilo C_1-C_6, alcoxi C_1-C_6, alquil éter C_2-C_6, alcanoilamino C_1-C_6, mono- o di-(alquilC_1-C_6)amino, alquilsulfonilo C_1-C_6, alquilsulfonilamino C_1-C_6, mono- o di-(alquilC_1-C_6)aminosulfonilo, mono- o di-(alquilaminoC_1-C_6)carbonilo, y heterociclo de 4- a 7-miembros.

16. Un compuesto o su sal de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-15, en donde Z_1, Z_2 y Z_3 son cada uno CR_2.

17. Un compuesto o su sal de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-15, en donde Z_1 es N y Z_2 y Z_3 son cada

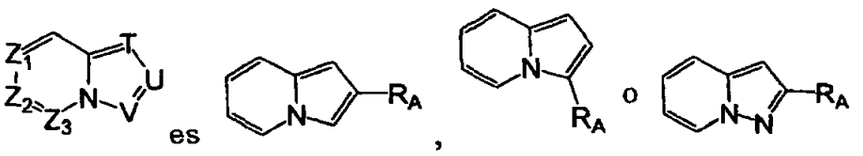
315

uno CR_2.

18. Un compuesto o su sal de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-15, en donde Z_2 es N y Z_1 y Z_3 are cada CR_2.

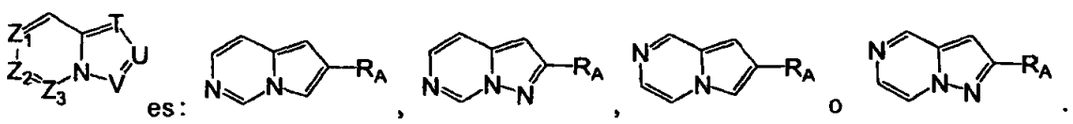
19. Un compuesto o su sal de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-18, en donde cada R_2 es hidrógeno o alquilo C_1-C_6

20. Un compuesto o la sal del mismo de acuerdo con cualquiera

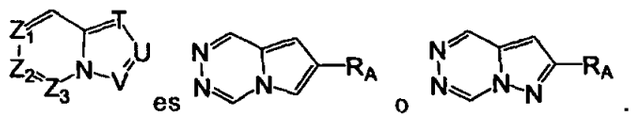


de las reivindicaciones 1 a 15, en donde:

21. Un compuesto o la sal del mismo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15, en donde:



22. Un compuesto o la sal del mismo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15, en donde:



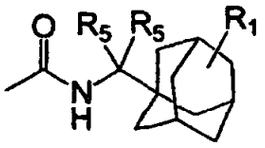
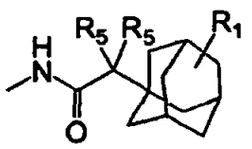
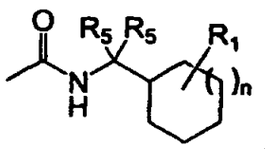
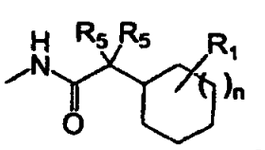
23. Un compuesto o su sal de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-22, en donde X es metileno o etileno, cada uno de los cuales está sustituido con de 0 a 4 sustituyentes elegidos independientemente entre alquilo C_1-C_4, (cicloalquilC_3-C_8) alquilo C_0-C_2 C2, fenilo y sustituyentes que se toman conjuntamente para formar un anillo de 3- a 7-miembros de cicloalquilo o

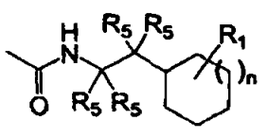
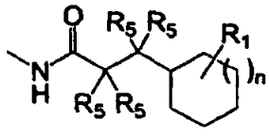
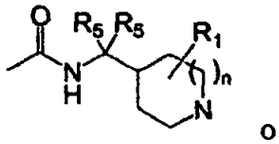
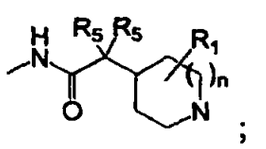
316

heterocicloalquilo.

24. Un compuesto o su sal de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-23, en donde Y es ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, piperidinilo, piperazinilo, morfolinilo, o adamantilo, cada uno de los cuales está sustituido con de 0 a 4 sustituyentes elegidos independientemente entre halógeno, hidroxi, ciano, amino, alquilo C_1-C_6, alquenilo C_2-C_6, alquinilo C_2-C_6, haloalquilo C_1-C_6, hidroxialquilo C_1-C_6, alcoxi C_1-C_6, y mono- o di-(alquilC_1-C_6)amino.

25. Un compuesto o su sal de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-23, en donde -W-X-Y es:


,

,

,

,


,

,

o

;

en donde:

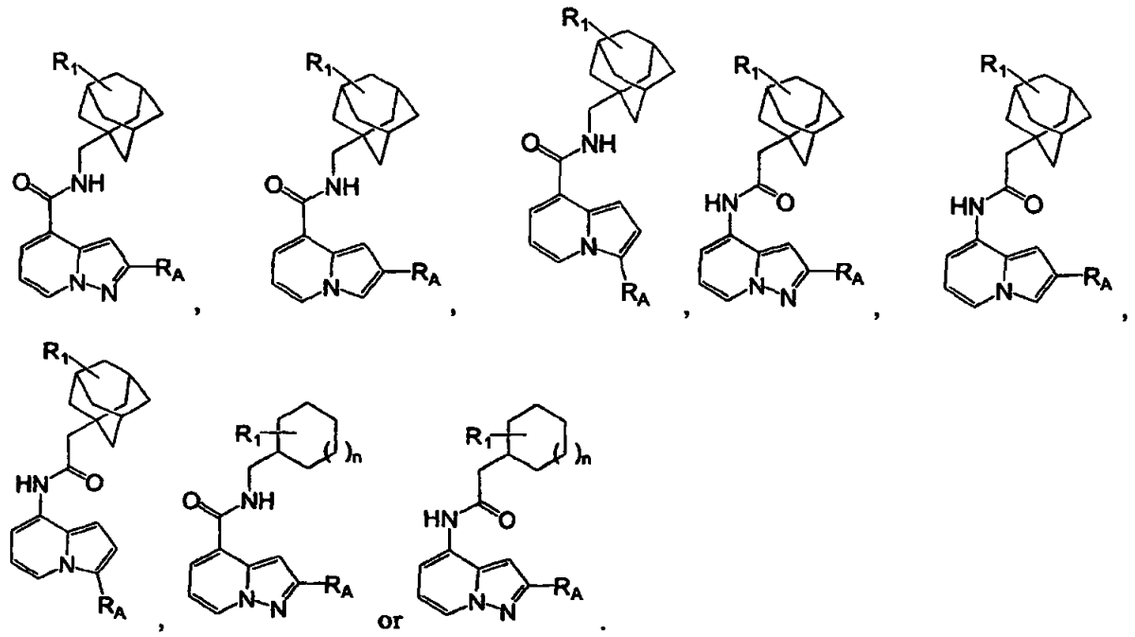
n es 0, 1 o 2;

R_1 representa de 0 a 2 sustituyentes elegidos independientemente entre halógeno, hidroxi, ciano, amino, nitro, aminocarbonilo, aminosulfonilo, alquilo C_1-C_6, alquenilo C_2-C_6, alquinilo C_2-C_6, haloalquilo C_1-C_6, hidroxialquilo C_1-C_6, alcoxi C_1-C_6, haloalcoxi C_1-C_6, (cicloalquilo C_3-C_7) alquilo C_0-C_4, y mono- o di-(alquilC_1-C_6)amino; o dos sustituyentes representados por R_1 se toman conjuntamente para formar un puente alquileno C_1-C_3 o un anillo

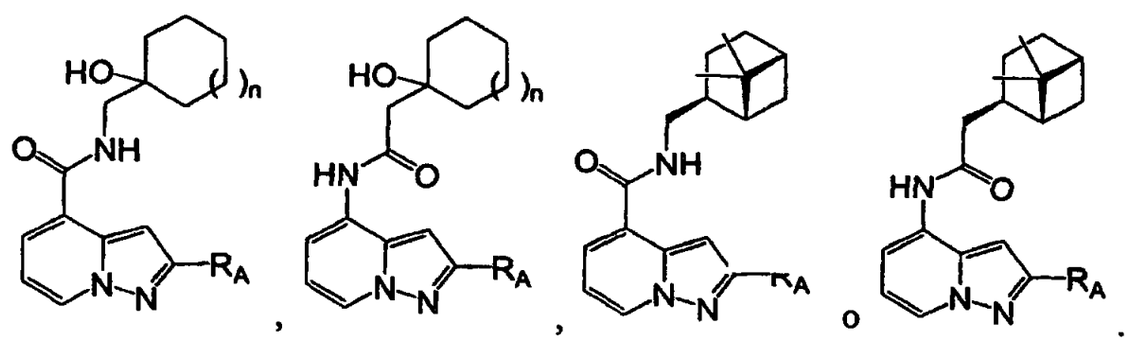
317

heterocíclico a carbocíclico de 3- a 7-miembros fusionado o espiro; y cada R_5 es independientemente hidrógeno, alquilo C_1-C_6, cicloalquilo C_3-C_7 o fenilo; o dos R_5 se toman conjuntamente para formar un cicloalquilo C_3-C_8.

26. Un compuesto o su sal de acuerdo con la reivindicación 25, en donde el compuesto tiene la fórmula:



27. Un compuesto o su sal de acuerdo con la reivindicación 25, en donde el compuesto tiene la fórmula:

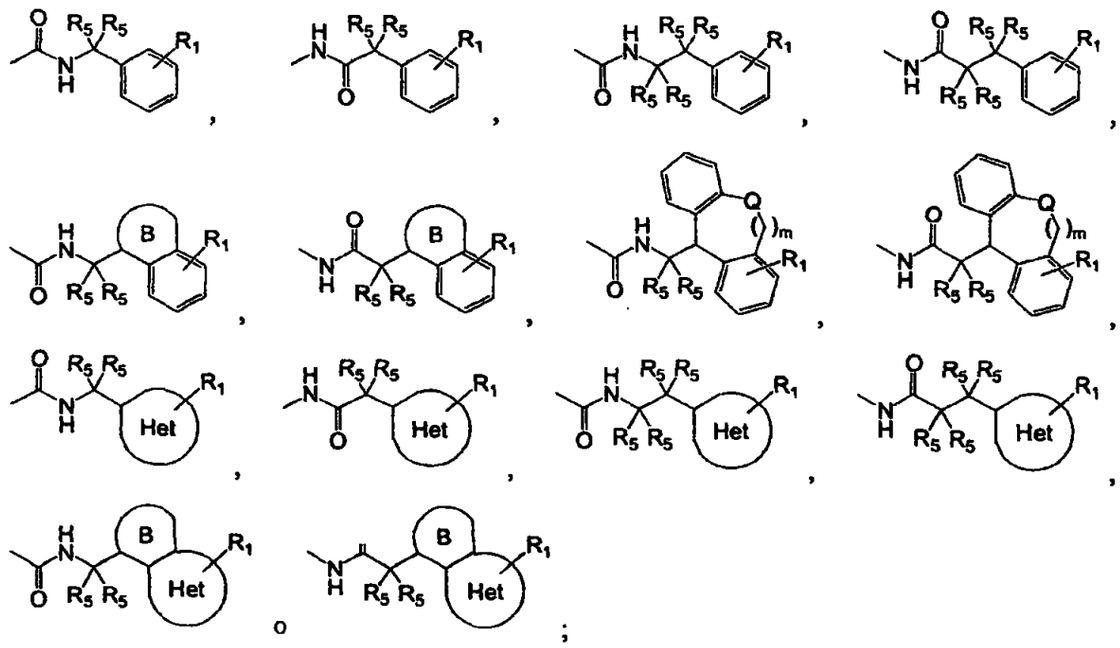


28. Un compuesto o su sal de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-23, en donde Y es fenilo o un heteroarilo de 5-

318

o 6-miembros; cada uno de los cuales está opcionalmente fusionado con un anillo carbocíclico o heterocíclico de 5- a 7-miembros; cada una de tales Y está sustituida con de 0 a 4 sustituyentes elegidos independientemente entre halógeno, hidroxi, ciano, amino, alquilo C_1-C_6, alquenilo C_2-C_6, alquinilo C_2-C_6, haloalquilo C_1-C_6, hidroxialquilo C_1-C_6, alcoxi C_1-C_6, y mono- o di-(alquilC_1-C_6)amino.

29. Un compuesto o su sal de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-23, en donde -W-X-Y es:



En donde:



es un anillo carbocíclico o heterocíclico de 5- a 7-miembros;



es un heteroarilo de 5- o 6- miembros;

R_1 representa de 0 a 2 sustituyentes elegidos independientemente entre halógeno, hidroxi, ciano, amino,

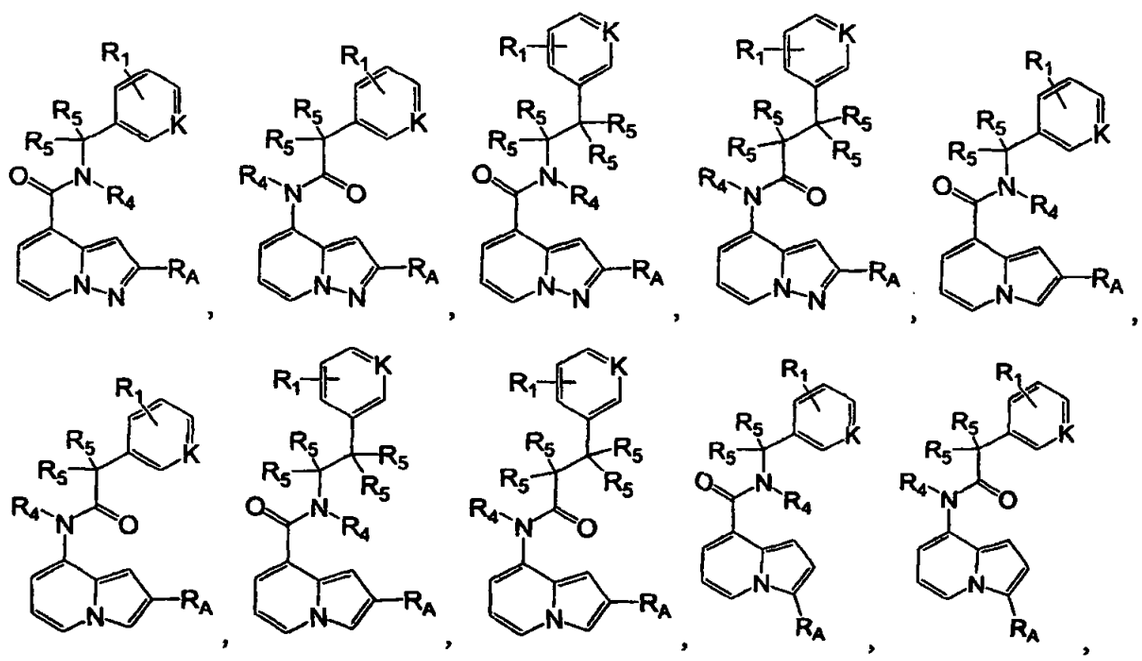
nitro, aminocarbonilo, aminosulfonilo, alquilo C_1-C_6, alquenilo C_2-C_6, alquinilo C_2-C_6, haloalquilo C_1-C_6, hidroxialquilo C_1-C_6, alcoxi C_1-C_6, haloalcoxi C_1-C_6, (cicloalquilC_3-C_7)alquilo C_0-C_4, y mono- o di-(alquilC_1-C_6)amino; o dos sustituyentes representados por R_1 se toman conjuntamente para formar un anillo carbocíclico o heterocíclico de 3- a 7-miembros, fusionado o espiro;

Cada R_5 es independientemente hidrógeno, alquiloC_1-C_6, cicloalquilo C_3-C_7 o fenilo; o dos R_5 se toman conjuntamente para formar un cicloalquiloC_3-C_8;

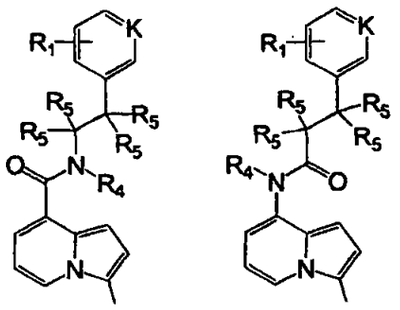
Q es CH_2, CO, O, NH, S, SO o SO_2; y

m es 0 o 1.

30. A compuesto o su sal de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el compuesto tiene la fórmula:



320



en donde K es CH o N,

R_1 representa de 0 a 2 sustituyentes elegidos independientemente entre halógeno, hidroxi, ciano, amino, nitro, aminocarbonilo, aminosulfonilo, alquilo C_1-C_6, alquenilo C_2-C_6, alquinilo C_2-C_6, haloalquilo C_1-C_6, hidroxialquilo C_1-C_6, alcoxi C_1-C_6, haloalcoxi C_1-C_6, (cicloalquilC_3-C_7)alquilo C_0-C_4, y mono- o di-(alquilC_1-C_6)amino; o dos sustituyentes representados por R_1 se toman conjuntamente para formar un anillo carbocíclico o heterocíclico de 3 a 7 miembros fusionado o espiro;

R_4 es hidrógeno, alquilo C_1-C_6, (cicloalquilC_3-C_8)alquilo C_0-C_2 o se toma conjuntamente con cualquier R_5 para formar heterocicloalquilo de 4 a 6 miembros;

Cada R_5 es independientemente hidrógeno, alquilo C_1-C_6, cicloalquilo C_3-C_7 o fenilo; o está unido con R_4 para formar un heterocicloalquilo de 4- a 6- miembros; o dos R_5 se toman conjuntamente para formar un cicloalquilo C_3-C_7; y R_A es un grupo de la fórmula -L-A-M, en donde:

L está ausente o es alquileno C_1-C_6 que está opcionalmente modificado por el reemplazo de un enlace sencillo carbono-carbono con un enlace carbono-carbono doble, alquileno el

321

cual está opcionalmente sustituido con oxo, -COOH, -SO_3H, -SO_2NH_2, -PO_3H_2, tetrazol u oxadizaolona;

A está ausente o es CO, O, NR_6, S, SO, SO_2, $CONR_6$, NR_6CO, (cicloalquilC_4-C_7)alquileno C_0-C_4 o (heterocicloalquil de 4 a 7 miembros)alquileno C_0-C_4; en donde R_6 es hidrógeno o alquilo C_1-C_6; y

M es:

(i) hidroxi, ciano, amino, aminocarbonilo, aminosulfonilo o COOH; o (ii) haloalquilo C_1-C_6, alcoxi C_1-C_6, carbociclo de 5 a 10 miembros, heterociclo de 4 a 10 miembros, alcanoiloxi C_1-C_6, alcanoilamino C_1-C_6, alquilsulfonilo C_1-C_6, alquilsulfonilamino C_1-C_6, alquilsulfoniloxi C_1-C_6, mono- o di-alquilamino C_1-C_6, mono- o di-(alquilC_1-C_6)aminosulfonilo, o mono- o di-(alquilC_1-C_6)aminocarbonilo; cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido y cada uno de los cuales está preferiblemente sustituido con de 0 a 4 sustituyentes elegidos independientemente entre oxo, amino, halógeno, hidroxi, ciano, aminocarbonilo, aminosulfonilo, COOH, alquilo C_1-C_6, hidroxialquilo C_1-C_6, haloalquilo C_1-C_6, alcoxi C_1-C_6, haloalcoxi C_1-C_6, alquil C_2-C_6 éter, alcanoilamino C_1-C_6, mono- o di-(alquilC_1-C_6)amino, alquilsulfonilo C_1-C_6, alquilsulfonilamino C_1-C_6, mono- o di-(alquilC_1-C_6)aminosulfonilo, mono- o di-(alquilaminoC_1-C_6)carbonilo, y heterociclo de 4- a 7-miembros.

31. Un compuesto o su sal de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el compuesto es:

322

Éster etílico del ácido 4-[(adamantan-1-ilmetil)carbamoil] pirazol[1,5-a]piridin-2-carboxílico;

N-(adamantan- 1-ilmetil)-2-{[(3R)-3-aminopirrolidin-1-il] carbonil}pirazol[1,5-a] piridin-4-carboxamida;

N-(adamantan-1-ilmetil)-2-(hidroximetil)pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida;

N-(adamantan-1-ilmetil)-2-{[(3R)-3-aminopirrolidin-1-il]metil} pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida;

N-(adamantan-1-ilmetil)-2-(cianometil)pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida;

ácido{4-[(adamantan-1-ilmetil)carbamoil]pirazol[1,5-a]piridin-2-il}acético;

N-(adamantan-1-ilmetil)-2-{2-[(3R)-3-aminopiperidin-1-il]-2-oxoetil}pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida;

éster etílico del ácido {4-[(adamantan-1-ilmetil)carbamoil] pirazol[1,5-a]piridin-2-ilmetoxi} acético;

Ácido {4-[(adamantan-1-ilmetil)carbamoil]pirazol[1,5-a]piridin-2-ilmetoxi} acético;

éster etílico del ácido 4-(2-adamantan-1-ilacetilamino)pirazol [1,5-a]piridin-2-carboxílico;

(adamantan-1-ilmetil)-amida del ácido 2-(2-ciano-vinil)-pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxílico;

N-(adamantan-1-ilmetil)-2-(2-cianoetil)pirazol[1,5-a]piridin -4-carboxamida;

323

(adamantan-1-ilmetil)-amida del ácido 2-[2-(1H-tetrazol-5il)-etil]-pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxílico;

N-(adamantan-1-ilmetil)-2-{[(3R)-3-(isopropilamino)pirrolidin-1-il]carbonil}pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida;

N-(adamantan-1-ilmetil)-2-{[(3R)-3-aminopiperidin-1-1]carbonil}pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida;

4-N-(adamantan-1-ilmetil)-2-N-(2-metoxietil)-2-N-metilpirazol[1,5-a]piridin-2,4-dicarboxamida;

4-N-(adamantan-1-ilmetil)-2-N-metil-2-N-piridin-2-ilpirazol[1,5-a]piridin-2,4-dicarboxamida;

N-(adamantan-1-ilmetil)-2-(5,6-dihidroimidazo[1,5-a]pirazin-7(8H)-ilcarbonil)pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida;

4-N-(adamantan-1-ilmetil)-2-N-metil-2-N-(piridin-3-ilmetil)pirazol[1,5-a]piridin-2,4-dicarboxamida;

N-(adamantan-1-ilmetil)-2-(morfolin-4-ilcarbonil)pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida;

etil N-({4-[(adamantan-1-ilmetil)carbamoil]pirazol[1,5-a]piridin-2-il}carbonil)-N-metilglicinato;

N-(adamantan-1-ilmetil)-2-(5,6-dihidro[1,2,4]triazol[4,3-a]pirazin-7(8H)-ilcarbonil)pirazol[1,5-a]piridin-4carboxamida;

N-(adamantan-1-ilmetil)-2-(2-morfolin-4-il-2-oxoetil)pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida;

4-N-(adamantan-1-ilmetil)-2-N-metil-2-N-[(1-metil-1H-imidazol-5-il)metil]pirazol[1,5-a]piridin-2,4-dicarboxamida;

N-(adamantan-1-ilmetil)-2-{[(3R)-3-(dimetilamino)pirrolidin-1-il] carbonil}pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida;

4-N-(adamantan-1-ilmetil)-2-N-metil-2-N-(tetrahidrofuran-3-il)pirazol[1,5-a]piridin-2,4-dicarboxamida;

etil N-({4-[(adamantan-1-ilmetil)carbamoil]pirazol[1,5-a]piridin-2-il}metil)-N-metilglicinato;

N-(adamantan-1-ilmetil)-2-[(2-metil-4-oxo-3,5,7,8-tetrahidropirido[4,3-d]pirimidin-6(4H)-il)carbonil]pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida;

N-(adamantan-1-ilmetil)-2-{[(3R)-3-(dietilamino)pirrolidin-1-il] carbonil}pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida;

N-(adamantan-1-ilmetil)-2-[(3-oxopiperazin-1-il)carbonil]pirazol [1,5-a]piridin-4-carboxamida;

4-N-(adamantan-1-ilmetil)-2-N-metil-2-N-(piridin-4-ilmetil) pirazol[1,5-a]piridin-2,4-dicarboxamida;

N-(adamantan-1-ilmetil)-2-[(1-metil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-pirazol[4,3-c]piridin-5-il)carbonil]pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida;

4-N-(adamantan-1-ilmetil)-2-N-(tetrahidro-2H-piran-4-il)pirazol [1,5-a]piridin-2,4-dicarboxamida;

N-(adamantan-1-ilmetil)-2-[(2-oxo-1-oxa-3,8-diazaspiro[4.5]dec-8-il)carbonil]pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida;

4-N-(adamantan-1-ilmetil)-2-N-metil-2-N-(tetrahidro-2H-piran-4-il)pirazol[1,5-a]piridin-2,4-dicarboxamida;

4-N-(adamantan-1-ilmetil)-2-N-(3-metoxipropil)pirazol[1,5-a]piridin-2,4-dicarboxamida;

325

4-N-(adamantan-1-ilmetil)-2-N-metil-2-N-piridin-4-ilpirazol[1,5-a]piridin-2,4-dicarboxamida;

N-(adamantan-1-ilmetil)-2-[(3-oxo-2,8-diazaspiro[4.5]dec-8-il)carbonil]pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida;

etil N-({4-[(adamantan-1-ilmetil)carbamoil]pirazol[1,5-a]piridin-2-il}carbonil)glicinato;

4-N-(adamantan-1-ilmetil)-2-N-(2-metoxietil)pirazol[1,5-a]piridin-2,4-dicarboxamida;

2-{[(3R)-3-aminopiperidin-1-il]carbonil}-N-(4-metil-2-fenilpentil)pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida;

N-(adamantan-1-ilmetil)-2-[2-(1H-tetrazol-5-il)etil]pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida;

tert-butil [1-({4-[(4-metil-2-fenilpentil)carbamoil]pirazol[1,5-a]piridin-2-il}carbonil)pirrolidin-3-il]carbamato;

2-{[(3R)-3-aminopirrolidin-1-il]carbonil}-N-(4-metil-2-fenilpentil)pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida;

N-(adamantan-1-ilmetil)-2-{[(3R)-3-(metilamino)pirrolidin-1-il]carbonil}pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida;

N-(adamantan-1-ilmetil)-2-{[(3R)-3-(etilamino)pirrolidin-1-il]carbonil}pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida;

4-N-(adamantan-1-ilmetil)-2-N-metil-2-N-(pirazin-2-ilmetil) pirazol[1,5-a]piridin-2,4-dicarboxamida;

4-N-(adamantan-1-ilmetil)-2-N-metil-2-N-[(1-metil-1H-pirazol-4-il)metil]pirazol[1,5-a]piridin-2,4-dicarboxamida;

4-N-(adamantan-1-ilmetil)-2-N-metil-2-N-(piridin-2-ilmetil) pirazol[1,5-a]piridin-2,4-dicarboxamida;

4-N-(adamantan-1-ilmetil)-2-N-(piridin-2-ilmetil)pirazol[1,5-a]piridin-2,4-dicarboxamida;

N-(adamantan-1-ilmetil)-2-(5,6-dihidroimidazo[1,5-a]pirazin-7(8H)-ilmetil)pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida;

N-(adamantan-1-ilmetil)-2-{[metil(piridin-2-ilmetil)amino]metil} pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida;

N-(adamantan-1-ilmetil)-2-{[metil(piridin-3-ilmetil)amino]metil} pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida;

N-(adamantan-1-ilmetil)-2-{[metil(pirazin-2-ilmetil)amino]metil} pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida;

2-{[(3R)-3-aminopirrolidin-1-il]carbonil}-N-(4-metil-2-piridin-3-ilpentil)pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida;

2-{[(3R)-3-aminopirrolidin-1-il]carbonil}-N-[(1-piridin-3-ilciclohexil)metil]pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida;

2-{[(3R)-3-aminopirrolidin-1-il]carbonil}-N-(2-ciclohexil-4-metilpentil)pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida;

N-(adamantan-1-ilmetil)-2-{2-[(2-fluoroetil)amino]-2-oxoetil}pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida;

N-(adamantan-1-ilmetil)-2-{2-[(2,2-difluoroetil)amino]-2-oxoetil}pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida;

N-(adamantan-1-ilmetil)-2-{2-oxo-2-[(2,2,2-trifluoroetil)amino] etil}pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida;

4-N-(adamantan-1-ilmetil)-2-N-(2-fluoroetil)pirazol[1,5-a] piridin-2,4-dicarboxamida;

4-N-(adamantan-1-ilmetil)-2-N-(2,2-difluoroetil)pirazol[1,5-a]piridin-2,4-dicarboxamida;

4-N-(adamantan-1-ilmetil)-2-N-(2,2,2-trifluoroetil)pirazol[1,5-a]piridin-2,4-dicarboxamida;

4-N-(adamantan-1-ilmetil)-2-N-(2-fluorobenzil)-2-N-metilpirazol [1,5-a]piridin-2,4-dicarboxamida;

4-N-(adamantan-1-ilmetil)-2-N-(3-fluorobenzil)-2-N-metilpirazol[1,5-a]piridin-2,4-dicarboxamida;

4-N-(adamantan-1-ilmetil)-2-N-(4-fluorobenzil)-2-N-metilpirazol[1,5-a]piridin-2,4-dicarboxamida;

N-(adamantan-1-ilmetil)-2-{[(2-fluorobenzil)(metil)amino]metil} pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida;

N-(adamantan-1-ilmetil)-2-{[(3-fluorobenzil)(metil)amino] metil}pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida;

N-(adamantan-1-ilmetil)-2-{[(4-fluorobenzil)(metil)amino]metil} pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida;

2-{[(3R)-3-aminopirrolidin-1-il]carbonil}-N-[2-(4-clorofenil)-4-metilpentil]pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida;

2-{[(3R)-3-aminopirrolidin-1-il]carbonil}-N-(3-ciclohexil-2-fenilpropil)pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida;

2-{[(3R)-3-aminopirrolidin-1-il]carbonil}-N-[4-metil-2-(4-metilfenil)pentil]pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida;

328

4-N-(adamantan-1-ilmetil)-2-N-(2-fluoroetil)-2-N-metilpirazol [1,5-a]piridin-2,4-dicarboxamida;

4-N-(adamantan-1-ilmetil)-2-N-(2,2-difluoroetil)-2-N-metilpirazol[1,5-a]piridin-2,4-dicarboxamida;

4-N-(adamantan-1-ilmetil)-2-N-metil-2-N-(2,2,2-trifluoroetil) pirazol[1,5-a]piridin-2,4-dicarboxamida;

N-(adamantan-1-ilmetil)-2-{2-[(2-fluoroetil)(metil)amino]-2-oxoetil}pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida;

N-(adamantan-1-ilmetil)-2-{2-[(2,2-difluoroetil)(metil)amino]-2-oxoetil}pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida;

N-(adamantan-1-ilmetil)-2-{2-[metil(2,2,2-trifluoroetil)amino]-2-oxoetil}pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida;

2- {[(3R)-3-aminopirrolidin-1-il]carbonil}-N- 4-metil-2-[4-(trifluorometil)fenil]pentil}pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida;

4-N-(adamantan-1-ilmetil)-2-N-metil-2-N-[2-(metilsulfonil)etil] pirazol[1,5-a]piridin-2,4-dicarboxamida;

4-N-(adamantan-1-ilmetil)-2-N-(1,1-dioxidotetrahidrotiophen-3-il)pirazol[1,5 -a]piridin-2,4-dicarboxamida;

N-{[1-(4-clorofenil)ciclohexil]metil}-2-(5,6-dihidroimidazo[1,5-a]pirazin-7(8H)-ilcarbonil)pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida;

N-{[1-(4-clorofenil)ciclohexil]metil}-2-(morfolin-4-ilcarbonil) pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida;

4-N-{[1-(4-clorofenil)ciclohexil]metil}-2-N-(2-fluoroetil)-2-N-metilpirazol[1,5-a]piridin-2,4-dicarboxamida;

2-N-(2-fluoroetil)-2-N-metil-4-N-{4-metil-2-[4-(trifluorometil)fenil]pentil}pirazol[1,5-a]piridin-2,4-dicarboxamida;

N-{4-metil-2-[4-(trifluorometil)fenil]pentil}-2-(morfolin-4-ilcarbonil)pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida;

2-(5,6-dihidroimidazo[1,5-a]pirazin-7(8H)-ilcarbonil)-N-{4-metil-2-[4-(trifluorometil)fenil]pentil}pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida;

N-(adamantan-1-ilmetil)-2-(4,5-dihidro-1H-imidazol-2-ilmetil)pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida;

2-{[(3R)-3-aminopirrolidin-1-il]carbonil}-N-{[1-(4-clorofenil)ciclohexil]metil}pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida;

N-[2-(4-clorofenil)-4-metilpentil]-2-(morfolin-4-ilcarbonil)pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida;

4-{[2-(4-cloro-fenil)-4-metil-pentil]-amido}2-[(2-fluoro-etil)-metil-amida] del ácido pirazol[1,5-a]piridin-2,4-dicarboxílico;

2-[(2-fluoro-etil)-metil-amido]-4-{[1-(4-trifluorometil-fenil)-ciclohexilmetil]-amida} del ácido pirazol[1,5-a]piridin-2,4-dicarboxílico;

2-(morfolin-4-ilcarbonil)-N-({1-[4-(trifluorometil)fenil]ciclohexil}metil)pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida;

N-(adamantan-1-ilmetil)-2-[2-(4,5-dihidro-1H-imidazol-2-il)etil]pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida;

2-adamantan-1-il-N-[2-(morfolin-4-ilcarbonil)pirazol[1,5-a]piridin-4-il]acetamida;

2-adamantan-1-il-N-[2-(5,6-dihidroimidazo[1,5-a]pirazin-7(8H)-ilcarbonil)pirazol[1,5-a]piridin-4-il]acetamida;

4-[(adamantan-1-ilacetil)amino]-N-(2-fluoroetil)-N-metilpirazol[1,5-a]piridin-2-carboxamida;

2-adamantan-1-il-N-(2-{[(3R)-3-aminopirrolidin-1-il]carbonil}pirazol[1,5-a]piridin-4-il)acetamida;

rel-2-{[(2R,6S)-2,6-dimetilmorfolin-4-il]carbonil}-N-{4-metil-2-[4-(trifluorometil)fenil]pentil}pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida;

2-[(2,2-dimetilmorfolin-4-il)carbonil]-N-{4-metil-2-[4-(trifluorometil)fenil]pentil}pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida;

rel-2-{[(3R,5S)-3,5-dimetilmorfolin-4-il]carbonil}-N-{4-metil-2-[4-(trifluorometil)fenil]pentil}pirazol[1,5-a]piridin-4-carboxamida;

ácido 2-{4-[(adamantan-1-ilmetil)carbamoil]pirazol[1,5-a]piridin-2-il}-3-fenilpropanoico;

ácido 2-[4-({[1-(4-clorofenil)ciclohexil]metil}carbamoil)pirazol[1,5-a]piridin-2-il]-3-fenilpropanoico;

ácido 3-{4-[(adamantan-1-ilmetil)carbamoil]pirazol[1,5-a]piridin-2-il}butanoico;

ácido 3-{4-[(adamantan-1-ilmetil)carbamoil]pirazol[1,5-a]piridin-2-il}-3-fenilpropanoico;

ácido 3-{4-[(adamantan-1-ilmetil)carbamoil]pirazol[1,5-a] piridin-2-il}-4-fenilbutanoico;

ácido 4-{8-[(adamantan-1-ilmetil)carbamoil]indolizin-2-il} benzoico;

N-(adamantan-1-ilmetil)-3-(4-cianobenzoil)indolizin-8-carboxamida;

N-(adamantan-1-ilmetil)-3-(4-carbamoilbenzoil)indolizin-8-carboxamida;

2-(4-cianofenil)-N-[(1-piridin-3-ilciclohexil)metil]indolizin-8-carboxamida;

N-(adamantan-1-ilmetil)-3-(3-cianobenzoil)indolizin-8-carboxamida;

N-(adamantan-1-ilmetil)-3-(3-carbamoilbenzoil)indolizine-8-carboxamida; o

N-(adamantan-1-ilmetil)-2-(4-carbamoilfenil)indolizin-8-carboxamida.

32. Un compuesto o su sal de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-31, en donde el compuesto no presenta actividad agonista detectable en un ensayo *in vitro* para agonismo del receptor $P2X_7$.

33. Un compuesto o su sal de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-32, en donde, en un ensayo para antagonismo del receptor $P2X_7$, el compuesto presenta un valor IC_{50} de 20 micromolar o menos.

34. Una composición farmacéutica, que contiene por lo menos un

332

compuesto o su sal de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-33 en combinación con un portador o excipiente fisiológicamente aceptable.

35. Una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 34, en donde la composición se formula como un fluido inyectable, un aerosol, una crema, un ungüento, un líquido oral, una tableta, una pastilla masticable, una pastilla, un rociador, un polvo, un polvo dispersable, gránulos, una píldora, una cápsula, un gel, una pasta, una espuma, una loción, un liquido acuoso, una emulsión, un jarabe, un supositorio o un parche transdérmico.

36. Un método para modular la actividad de un receptor $P2X_7$ *in vitro,* comprendiendo el método el contacto del receptor $P2X_7$ con por lo menos un compuesto o su sal de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-33, bajo condiciones y en cantidad suficiente para alterar de manera detectable la actividad del receptor $P2X_7$.

37. Un método para modular la actividad de un receptor $P2X_7$ en un paciente, que comprende el contacto de células que expresan el receptor $P2X_7$ con por lo menos un compuesto o su sal de acuerdo con cualquiera reivindicaciones 1-33, en cantidad suficiente alterar de manera detectable la actividad del receptor $P2X_7$ *in vitro,* y de tal modo alterar la actividad del receptor $P2X_7$ en el paciente.

38. A método de acuerdo con la reivindicación 37, en donde el paciente es un humano.

39. Un método para el tratamiento de una condición que

responde a la modulación del receptor $P2X_7$ en un paciente, que comprende administrar al paciente una cantidad terapéuticamente efectiva de por lo menos un compuesto o su sal de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-33, y aliviar de tal manera la condición del paciente.

40. Un método de acuerdo con la reivindicación 39, en donde la condición es dolor.

41. Un método de acuerdo con reivindicación 40, en donde el dolor es dolor neuropático.

42. Un método de acuerdo con la reivindicación 40, en donde el dolor es dolor asociado a artritis, un síndrome de dolor neuropático, dolor visceral, dolor dental, dolor de cabeza, dolor de muñón, meralgia parestésica, síndrome de boca quemada, dolor asociado con daño en el nervio y la raíz, causalgia, neuritis, neuronitis, neuralgia, dolor relacionado con cirugía, dolor musculoesquelético, dolor del sistema nervioso central, dolor espinal, Dolores de Charcot, dolor de oído, dolor muscular, dolor de ojos, orofacial dolor, síndrome del túnel carpiano, dolor de espalda agudo y crónico, gota, dolor de cicatriz, dolor de hemorroides, dolores por dispepsia, angina, dolor de la raíz del nervio, síndrome de dolor regional complejo, dolor asociado a cáncer, dolor asociado con picadura venenosa, dolor asociado a trauma, dolor asociado con enfermedades autoimmunes o trastornos por immunodeficiencia, o dolor que resulta de oleadas de calor, quemaduras, quemaduras solares, o exposición al calor, frío o estímulos químicos externos.

43. Un método de acuerdo con la reivindicación 39, en donde la condición es inflamación, un trastorno neurológico o neurodegenerativo, un trastorno cardiovascular, un trastorno ocular o un trastorno del sistema inmune.

44. A método de acuerdo con la reivindicación 39, en donde la condición es osteoartritis, artritis reumatoide, artroesclerosis, glaucoma, síndrome de intestino irritable, enfermedad inflamatoria del intestino, cirrosis, lupus, escleroderma, enfermedad de Alzheimer, daño cerebral por trauma, asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, o fibrosis intersticial.

45. Un método para inhibir la muerte de células del ganglio retinal en un paciente, que comprende la administración al paciente de una cantidad terapéuticamente efectiva de por lo menos un compuesto o su sal de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-33, de éste modo inhibiendo la muerte de células del ganglio retinal en el paciente.

46. Un método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 39-45, en donde el paciente es un humano.

47. Un compuesto o su sal de acuerdo con reivindicación 1, en donde el compuesto está marcado con radio.

48. Un método para determinar la presencia o ausencia de receptor $P2X_7$ en una muestra, que comprende las etapas de:

(a) Contacto de una muestra con el compuesto o su sal de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-33, bajo condiciones que permiten la modulación por el compuesto

de la actividad del receptor $P2X_7$; y

(b) Detección de una señal que indica el nivel del compuesto o su sal que modula la actividad del receptor $P2X_7$, determinando de ésta manera la presencia o ausencia de receptor $P2X_7$ en la muestra.

49. Un preparado farmacéutico empacado que comprende:

(a) una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 34 en un empaque; y

(b) instrucciones del uso de la composición para tratar el dolor.

50. Un preparado farmacéutico empacado que comprende:

(a) una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 34 en un empaque; y

(b) instrucciones para el uso de la composición para tratar inflamación, un trastorno neurológico o neurodegenerativo, un trastorno cardiovascular, un trastorno ocular o un trastorno del sistema inmune.

51. El uso de un compuesto o su sal de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-33 para la manufactura de un medicamento para el tratamiento de una condición que responde a la modulación del receptor $P2X_7$.

52. Un uso de acuerdo con la reivindicación 51, en donde la condición es dolor, dolor neuropático, inflamación, un trastorno neurológico o neurodegenerativo, un trastorno cardiovascular, un trastorno ocular o un trastorno del sistema inmune.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2008/004563

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C07D471/04 C07D519/00 A61K31/437 A61P29/00 A61P25/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
C07D A61K A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)
EPO-Internal, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No
X	WO 2006/094235 A1 (SIRTRIS PHARMACEUTICALS, INC., USA) 8 September 2006 (2006-09-08) claims; tables 3,5	1-30,34, 51,52
X	WO 03/035649 A1 (PFIZER PHARMACEUTICALS INC., JAPAN; PFIZER INC.) 1 May 2003 (2003-05-01) claims; examples	1-30,34, 51,52

-/--

[X] Further documents are listed in the continuation of Box C. [X] See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier document but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
3 July 2008	24/07/2008

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL – 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Bosma, Peter

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2008/004563

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DATABASE CA [Online] CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE, COLUMBUS, OHIO, US; SIGOVA, V. I. ET AL: "Synthesis and biological activity of the aryl amides of 2-methylnicotinic and 2-phenylindolisine-8-carboxylic acids" XP002486879 retrieved from STN Database accession no. 1985:453910 abstract & KHIMIKO-FARMATSEVTICHESKII ZHURNAL , 19(3), 159-63 CODEN: KHFZAN; ISSN: 0023-1134, 1985,	1
A	WO 2006/102588 A (RENOVIS INC [US]; KELLY MICHAEL G [US]; KINCAID JOHN [US]) 28 September 2006 (2006-09-28) claims; examples	1-52
A	WO 2004/106305 A (ASTRAZENECA AB [SE]; EVANS RICHARD [GB]; EYSSADE CHRISTINE [GB]; FORD) 9 December 2004 (2004-12-09) the whole document	1-52
A	WO 2006/110516 A (ABBOTT LAB [US]; NELSON DEREK W [US]; JARVIS MICHAEL F [US]; CARROLL W) 19 October 2006 (2006-10-19) the whole document	1-52
P,X	WO 2008/026687 A1 (KYORIN PHARMACEUTICAL CO., LTD., JAPAN) 6 March 2008 (2008-03-06) examples	1-30,34

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2008/004563

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. [X] Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Although claims 39-46, 48 are directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.

2. [ ] Claims Nos.:
because they relate to parts of the International application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. [ ] Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. [ ] As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers allsearchable claims.

2. [ ] As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. [ ] As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search reportcovers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. [ ] No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

[ ] The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.

[ ] The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

[ ] No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/US2008/004563

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2006094235 A1	08-09-2006	AU 2006218403 A1	08-09-2006
		CA 2599987 A1	08-09-2006
		EP 1853590 A1	14-11-2007
WO 03035649 A1	01-05-2003	AT 307812 T	15-11-2005
		BR 0213026 A	05-10-2004
		CA 2461159 A1	01-05-2003
		DE 60206952 D1	01-12-2005
		DE 60206952 T2	22-06-2006
		EP 1440071 A1	28-07-2004
		ES 2248616 T3	16-03-2006
		JP 2005526003 T	02-09-2005
		MX PA04002495 A	31-05-2004
WO 2006102588 A	28-09-2006	CA 2602717 A1	28-09-2006
		CA 2602718 A1	28-09-2006
		EP 1865774 A1	19-12-2007
		EP 1860942 A2	05-12-2007
		WO 2006102610 A2	28-09-2006
WO 2004106305 A	09-12-2004	AU 2004242626 A1	09-12-2004
		BR PI0410933 A	27-06-2006
		CA 2526884 A1	09-12-2004
		EP 1633717 A1	15-03-2006
		IS 8190 A	21-12-2005
		JP 2006526617 T	24-11-2006
		KR 20060015741 A	20-02-2006
		MX PA05012883 A	22-02-2006
		US 2006293337 A1	28-12-2006
WO 2006110516 A	19-10-2006	NONE	
WO 2008026687 A1	06-03-2008	NONE	

340

PATENT COOPERATION TREA / PCT/US2008/004563

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

NOTIFICATION OF THE RECORDING OF A CHANGE

(PCT Rule 92*bis*.1 and Administrative Instructions, Section 422)

To:

KALINCHAK, Stephen G.
Lundbeck Research USA, Inc.
215 College Road
Paramus, NJ 07652
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

Date of mailing *(day·month/year)*
08 June 2009 (08.06.2009)

Applicant's or agent's file reference
NEU-0037-PCT

IMPORTANT NOTIFICATION

International application No.
PCT/US2008/004563

International filing date *(day·month/year)*
09 April 2008 (09.04.2008)

1. The following indications appeared on record concerning:

☒ the applicant ☐ the inventor ☐ the agent ☐ the common representative

Name and Address
NEUROGEN CORPORATION
35 Northeast Industrial Road
Branford, CT 06405
United States of America

State of Nationality: US
State of Residence: US
Telephone No: 203-488-8201
Facsimile No.: 203-481-8683
E-mail address:

2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:

☒ the person ☐ the name ☐ the address ☐ the nationality ☐ the residence

Name and Address
H. LUNDBECK A/S
Ottiliavej 9
Valby-Copenhagen
DK-2500
Denmark

Lundbeck Research USA, Inc.
Legal Department
JUN 22 2009
Entered in CPA 6/22/09
Entered by

State of Nationality: DK
State of Residence: DK
Telephone No.: +45 36301311
Facsimile No.: +45 3643 8301
E-mail address:
☐ Notifications by e-mail authorized

3. Further observations, if necessary:

4. A copy of this notification has been sent to:

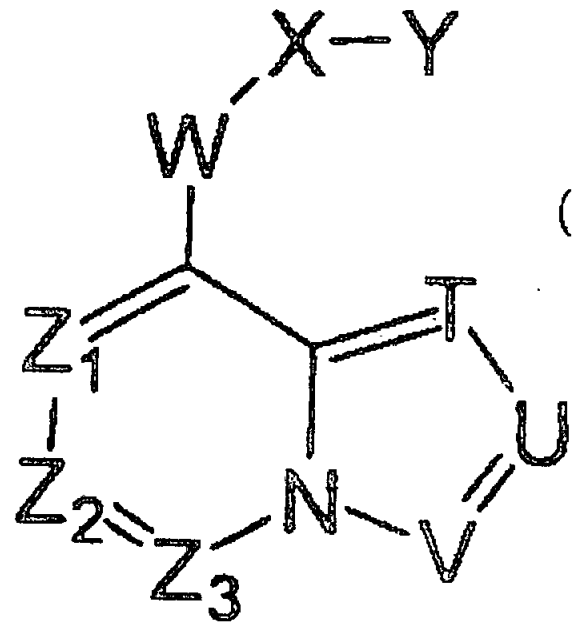
☒ the receiving Office
☐ the International Searching Authority
☐ the Authority(ies) specified for supplementary search
☐ the International Preliminary Examining Authority
☒ the designated Offices concerned
☐ the elected Offices concerned
☒ other: NEUROGEN CORPORATION

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

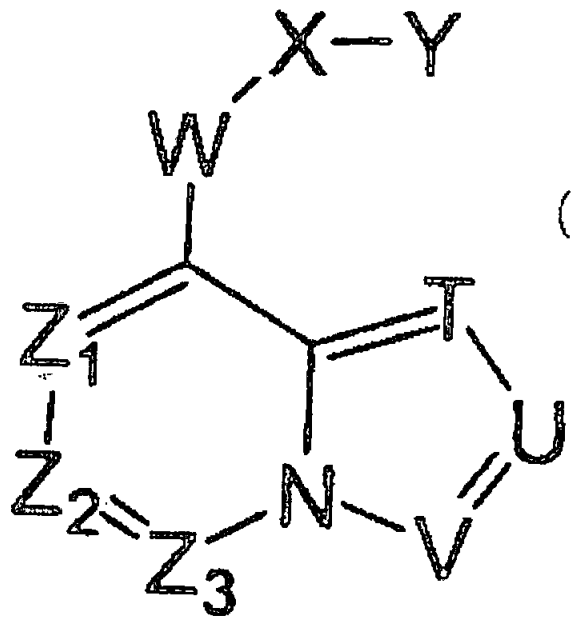
Facsimile No. +41 22 338 71 30

Authorized officer
Takeuchi Junko
e-mail pt09.pct@wipo int
Telephone No. +41 22 338 74 09

Form PCT/IB/306 (January 2009) 1/D22YZI1X0



(I)



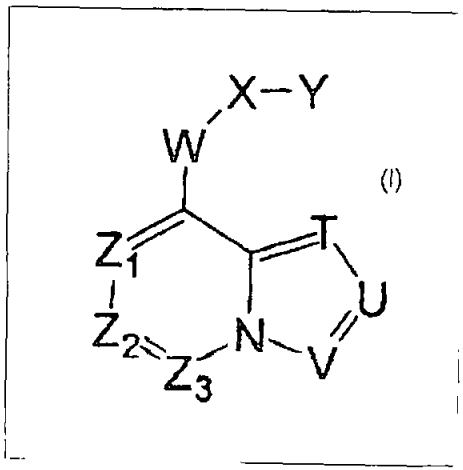
(I)

342

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 09-127786- -00000-0000

Fecha 2009-11-10 16 57 54 Dep. 2020 NUECREACIONI
Tra 11 PATENTEIYII Eve 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios 347



343

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 8001/6089-2

CERTIFICACION DE EXCEDENTE : 09 - 72,651
FECHA : SEPTIEMBRE 28 DE 2009

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 09-127786- -00000-0000
Fecha 2009-11-10 16:57:54
Tra 11 PATENTEIYII Dep 2020 NUECREACIONI
Act 411 PRESENTACION Eve 378 FASENACIONALI
Folios. 347

***** C O N S I G N A C I O N *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CAVELIER ABOGADOS	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062/54387	106430870	28/09/2009	37,061,000.00

***** C O N C E P T O *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-09 OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD I	99 OTROS SERVCIOS ADMINISTRATIVOS	5,000.00
		TOTAL : $	5,000.00

SON: CINCO MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No._____

ESTA CERTIFICACION DE EXCEDENTE DE PAGO SOLO PODRA SER UTILIZADA COMO PARTE DE LA CANCELACION DE UNA TARIFA VIGENTE Y NO PODRA SER SUSTITUIDA POR NINGUN RECIBO.

Obo 03003- 841.095.9

344

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 09-127786- -00000-0000
Fecha: 2009-11-10 16 57 54 Dep 2020 NUECREACIONI
Tra 11 PATENTEIYII Eve 378 FASENACIONALI
Act 411 PRESENTACION Folios 347

CERTIFICACION DE EXCEDENTE : 09 - 72,652
FECHA : SEPTIEMBRE 28 DE 2009

***** C O N S I G N A C I O N *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CAVELIER ABOGADOS	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	10643087O	28/09/2009	37,061,000.00

***** C O N C E P T O *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-09 OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD I	99 OTROS SERVCIOS ADMINISTRATIVOS	5,000.00
		TOTAL : $	5,000.00

SON: CINCO MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No._____

ESTA CERTIFICACION DE EXCEDENTE DE PAGO SOLO PODRA SER UTILIZADA COMO PARTE DE LA CANCELACION DE UNA TARIFA VIGENTE Y NO PODRA SER SUSTITUIDA POR NINGUN RECIBO.

Cdo 83003-841-095-4

345

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 09-127786- -00000-0000
Fecha 2009-11-10 16:57:54 Dep 2020 NUECREACIONL
Tra. 11 PATENTEIYII Eve. 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios 347

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 09 - 75,152
FECHA : OCTUBRE 5 DE 2009

***** C O N S I G N A C I O N *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CAVELIER ABOGADOS	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	130928173	05/10/2009	40,246,000.00

***** C O N C E P T O *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO		TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	87	SOL RENOVACION REGISTRO CON RECAR	805,000.00
			TOTAL : $	805,000.00

SON: OCHOCIENTOS CINCO MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

Nro 03003-891-095-4

346

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 09-127786- -00000-0000
Fecha 2009-11-10 16:57:54 Dep 2020 NUECREACIONI
Tra 11 PATENTEIYII Eve 378 FASENACIONALI
Act 411 PRESENTACION Folios 347

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 09 - 77,160
FECHA : OCTUBRE 13 DE 2009

***** C O N S I G N A C I O N *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CAVELIER ABOGADOS	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	130928140	13/10/2009	15,516,000.00

***** C O N C E P T O *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO		TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-03 CAMBIO DE MODALIDAD Y MODIFICA	12 MARCAS Y LEMAS COMERCIALES		111,000.00
		TOTAL :	$	111,000.00

SON: CIENTO ONCE MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No._____

Cdo 83003-841-095-4

347

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 8001?

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 09-127786- -00000-0000
Fecha 2009-11-10 16:57 54 Dep 2020 NUECREACIONI
Tra 11 PATENTEIYII Eve. 378 FASENACIONALI
Act 411 PRESENTACION Folios 347

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 09 - 80,188
FECHA : OCTUBRE 26 DE 2009

***** C O N S I G N A C I O N *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CAVELIER ABOGADOS	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062/54387	130928151	26/10/2009	29,860,000.00

***** C O N C E P T O *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	540,000.00
		TOTAL : $	540,000.00

SON: QUINIENTOS CUARENTA MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

Cdlo 03003-841.095-4

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

REQUISITOS MINIMOS PARA ADMISION A TRAMITE
PCT

PATENTE DE INVENCION [X] MODELO DE UTILIDAD [ ]

- Indicación de que se solicita la concesión de una patente [X]
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud [X]
- Descripción de la invención [X]
- Dibujos de ser estos pertinentes [ ]
- Comprobante de pago de las tasas establecidas [X]

COMPLETA [X] 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 trazado [ ]
- Comprobante de pago de las tasas establecidas [ ]

COMPLETA [ ] INCOMPLETA [ ]

Firma Responsable

Fecha

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 09-127786- -00000-0000
Fecha 2009-11-10 16 57 54 Dep 2020 NUECREACIONI
Tra 11 PATENTEIYII Eve 378 FASENACIONALI
Act 411 PRESENTACION Folios 347

Carrera 13 No. 27-00 Piso 5, 7 y 10
Conmutador: 3 82 08 40
Fax: 350 52 20
E-mail: info@sic.gov.co
www.sic.gov.co
Bogotá, D.C., Colombia

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

Bogotá,
2020

Doctor(a)
SUAREZ DE PAEZ LUZ CLEMENCIA
Apoderado(a) y/o Representante de
H.LUNDBECK A/S

REFERENCIA	Radicación No.	09 127786
	Solicitud internacional	pct/us2008/004563
	Fecha inicio fase nacional	10/11/2009
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	430
	Oficio No.	909

Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, artículo 27 del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), regla 51 bis del Reglamento y Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se le comunica que:

1. La solicitud no contiene la copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente del inventor al solicitante o a su causante, conforme a lo establecido por el artículo 26 literal k) de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina. Cuando se trate de documentos otorgados en el extranjero, estos deberán legalizarse de conformidad con lo dispuesto por los artículos 259 y 260 del Código de Procedimiento Civil. Cuando se trate de las declaraciones a que hace referencia la Regla 4.17 ii) del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes PCT., el alcance de las tales declaraciones se determinará según indiquen claramente una cesión de derechos del inventor al solicitante o su causante, de conformidad con lo dispuesto en el numeral 5.2.15 del Capítulo Quinto, Título X de la Circular Única de Superintendencia de Industria y Comercio.

En cumplimiento de lo dispuesto por el artículo 39 de la Decisión 486, se le requiere para que dentro del término de dos 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 numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Unica No.10 de 2001.

ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL
Directora de Nuevas Creaciones (c)

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de fecha 29 ENE. 2010
adpa11