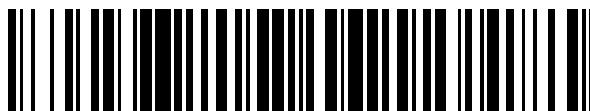


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 848 436**

51 Int. Cl.:

C07D 471/04 (2006.01)
A61K 31/497 (2006.01)
A61K 31/506 (2006.01)
A61P 3/06 (2006.01)
A61P 9/00 (2006.01)
A61P 9/10 (2006.01)
A61P 13/12 (2006.01)
A61P 43/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **10.06.2016** **PCT/JP2016/067307**
87 Fecha y número de publicación internacional: **15.12.2016** **WO16199877**
96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.06.2016** **E 16807582 (8)**
97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.11.2020** **EP 3309159**

54 Título: **Cristal de derivado de 5-hidroxi-4-(trifluorometil)pirazolopiridina**

30 Prioridad:

11.06.2015 JP 2015118569

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
09.08.2021

73 Titular/es:

DAIICHI SANKYO COMPANY, LIMITED (100.0%)
3-5-1, Nihonbashi Honcho Chuo-ku
Tokyo 103-8426, JP

72 Inventor/es:

KOBAYASHI, KATSUHIRO y
KANEKO, TOSHIO

74 Agente/Representante:

GONZÁLEZ PECES, Gustavo Adolfo

Observaciones:

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

ES 2 848 436 T3

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

DESCRIPCIÓN

Cristal de derivado de 5-hidroxi-4-(trifluorometil)pirazolopiridina

Campo técnico

- 5 La presente invención se refiere a un cristal particular de un derivado de pirazolopiridina o una sal farmacológicamente aceptable del mismo que tiene un excelente efecto activador de la lecitina-colesterol acetiltransferasa (en adelante en la presente, denominada LCAT) (preferentemente, efecto activador reversible de la LCAT).

Técnica anterior

- 10 Las enfermedades cardiovasculares (por ejemplo, enfermedades cardíacas, cerebrovasculares y renales) causadas por hipertensión, dislipidemia, diabetes mellitus o similares son problemas importantes para los países desarrollados. Los fármacos antihipertensivos, antidislipidémicos y antidiabéticos son usados en el tratamiento de las enfermedades hipertensión, dislipidemia e hiperglucemia, respectivamente. En el ámbito clínico, los bloqueadores α y β , diuréticos, antagonistas del calcio, inhibidores de ECA y antagonistas de A-II, etc., son usados como fármacos antihipertensivos; los inhibidores de HMG-CoA reductasa, resinas de intercambio aniónico, derivados de ácido nicotínico, probucol y fibratos, etc., son usados como fármacos antidislipidémicos; y las insulinas, sulfonilureas, metformina, glitazonas e inhibidores de DPP4, etc., son usados como fármacos antidiabéticos. Estos fármacos contribuyen a la regulación de la presión arterial y de los niveles de lípidos o glucosa en la sangre. Sin embargo, ni siquiera el uso de estos medicamentos ha producido una gran mejora en las tasas de mortalidad atribuidas a las enfermedades cardíacas, cerebrovasculares y renales. Por lo tanto, es necesario desarrollar mejores fármacos terapéuticos para estas enfermedades.
- 15 Un factor de riesgo directo de las enfermedades cardiovasculares es la aterosclerosis asociada con el engrosamiento de la pared arterial. Este engrosamiento es causado por la formación de placa resultante de la acumulación de colesterol oxidado de lipoproteínas de baja densidad (en adelante, denominado LDL) en macrófagos y similares en la pared arterial (Bibliografías no de patente 1 y 2). Esta placa de aterosclerosis inhibe el flujo sanguíneo y promueve la formación de coágulos de sangre.
- 20 Los resultados de numerosos estudios epidemiológicos indican que las concentraciones séricas de lipoproteínas están asociadas con enfermedades como la dislipidemia y la arteriosclerosis (por ejemplo, la Bibliografía No de Patente 3). Tanto el aumento de la concentración de colesterol LDL en la sangre como la disminución de la concentración de colesterol de lipoproteínas de alta densidad (en adelante en la presente memoria, denominado HDL) en la sangre son factores de riesgo de enfermedades coronarias.
- 25 En los tejidos periféricos, el HDL promueve el flujo de colesterol, que a su vez es esterificado por la lecitina-colesterol acetiltransferasa (en adelante en la presente memoria, denominada LCAT) en el HDL para producir éster de colesterol. El aumento de la actividad de la LCAT promueve el efluente de colesterol de los macrófagos (por ejemplo, en la Bibliografía No de Patente 4 y 5). En consecuencia, los fármacos que aumentan la actividad del LCAT son considerados útiles como medicamentos para el tratamiento o la profilaxis de enfermedades como la dislipidemia y la arteriosclerosis.
- 30 Un compuesto peptídico (por ejemplo, Bibliografía No de Patente 6) y, por ejemplo, el compuesto descrito en la Bibliografía de Patente 1 como una pequeña molécula, son conocidos como tales fármacos que aumentan la actividad de LCAT.
- 35 Los compuestos descritos en la Bibliografía de Patente 2 y 3 son conocidos como compuestos que tienen un esqueleto de pirazolopiridina.
- 40

Lista de citas**Bibliografía de patente**

- Bibliografía de Patente 1: documento WO2008/002591
- Bibliografía de Patente 2: documento WO2012/028243
- 45 Bibliografía de Patente 3: documento WO2013/187462

Bibliografía no de Patente

- Bibliografía No de Patente 1: Ross, R., Annu. Rev. Physiol. 1995, Vol. 57, p. 791-804
- Bibliografía No de Patente 2: Steinberg, D., J. Biol. Chem. 1997, Vol. 272, p. 20963-20966
- Bibliografía No de Patente 3: Badimon, J. Clin. Invest., 1990, Vol. 85, p. 1234-1241

Bibliografía No de Patente 4: Matsuura, F., J. Clin. Invest. 2006, Vol. 116, p. 1435-1442

Bibliografía No de Patente 5: Yvan-Charvet, L., Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 2007, Vol. 27, p. 1132-1138

Bibliografía No de Patente 6: Iwata, A., Atherosclerosis. 2011, Vol. 218, p. 300-307

Sumario de la invención

5 Problema técnico

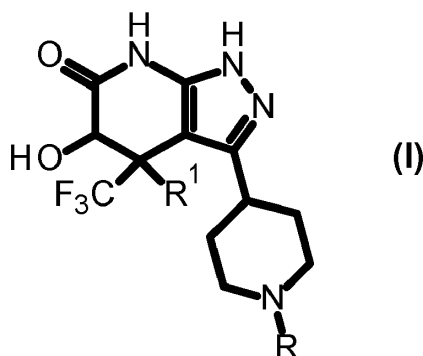
Los compuestos actualmente conocidos que tienen un efecto activador de LCAT son menos que satisfactorios en términos de seguridad y eficacia. Por lo tanto, ha habido una fuerte demanda de activadores de LCAT excelentes en seguridad y eficacia.

Solución del problema

10 Los inventores de la presente han realizado varias síntesis y estudios con el objetivo de obtener un nuevo fármaco antiarteriosclerótico que tiene un excelente efecto activador del LCAT y promueve directamente el flujo de colesterol de los macrófagos. Como resultado, los inventores de la presente han completado la presente invención al descubrir que un derivado de la pirazolopiridina que tiene una estructura particular o una sal farmacológicamente aceptable del mismo tiene un excelente efecto activador del LCAT.

15 La presente invención proporciona un cristal particular de un derivado de pirazolopiridina o una sal farmacológicamente aceptable del mismo que tiene un excelente efecto activador del LCAT (preferentemente, efecto activador del LCAT reversible), y un medicamento que lo comprende.

Específicamente, la presente invención se refiere a un cristal de un compuesto representado por la fórmula general (I) o una sal farmacológicamente aceptable del mismo:



20 en el que R¹ representa un átomo de hidrógeno y R representa un grupo 2-(trifluorometil)pirimidin-5-ilo, y el cristal es

1. (1) un cristal de (+)-cis-5R-hidroxi-4R-(trifluorometil)-3-{1-[2-(trifluorometil)pirimidin-5-ilo]piperidin-4-ilo}-1,4,5,7-tetrahidro-6H-pirazo[3,4-b]piridin-6-ona que presenta picos principales en los espaciados d de 12,00, 8,53, 6,10, 5,42, 4,56, 4,32, 3,83, 3,60, 3,39 y 3,04 angstroms en un patrón de difracción de rayos X en polvo obtenido por exposición a la radiación de cobre K α .

La presente invención también se refiere a:

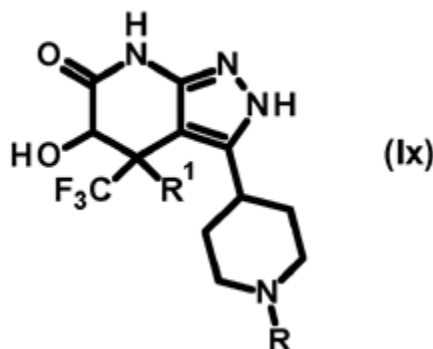
2. (2) una composición farmacéutica que comprende un cristal de acuerdo con (1) como ingrediente activo;
3. (3) la composición farmacéutica de acuerdo con (2), en la que la composición farmacéutica es para el tratamiento o profilaxis de arteriosclerosis, enfermedad cardíaca arteriosclerótica, enfermedad coronaria, enfermedad cerebrovascular, enfermedad vascular periférica, dislipidemia, hipocolesterolemia o enfermedad renal;
4. (4) la composición farmacéutica de acuerdo con (2), en la que la composición farmacéutica es para el tratamiento o profilaxis de arteriosclerosis;
5. (5) la composición farmacéutica de acuerdo con (2), en la que la composición farmacéutica es para el tratamiento o profilaxis de dislipidemia;
6. (6) la composición farmacéutica según el apartado 2), en la que la composición farmacéutica es para el tratamiento o profilaxis de una enfermedad causada por un aumento de la concentración de colesterol LDL en la sangre; y

7. (7) la composición farmacéutica de acuerdo con (2), en la que la composición farmacéutica es para el tratamiento o profilaxis de una enfermedad causada por una disminución de la concentración de colesterol HDL en la sangre. La presente invención también se refiere a:
8. (8) el cristal de acuerdo con (1) para uso en un procedimiento de tratamiento o profilaxis de una enfermedad;
- 5 9. (9) el cristal de acuerdo con (8), en el que la enfermedad es arteriosclerosis, cardiopatía arteriosclerótica, cardiopatía coronaria, enfermedad cerebrovascular, enfermedad vascular periférica, dislipidemia, hipocolesterolemia o enfermedad renal;
10. (10) el cristal para uso de acuerdo con (8), en el que la enfermedad es arteriosclerosis;
11. (11) el cristal para uso de acuerdo con (8), en el que la enfermedad es dislipidemia;
- 10 12. (12) el cristal para uso de acuerdo con (8), en el que la enfermedad es una enfermedad causada por un aumento de la concentración de colesterol LDL en la sangre; y
13. (13) el cristal para uso de acuerdo con (8), en el que la enfermedad es una enfermedad causada por una disminución de la concentración de colesterol HDL en la sangre.

En adelante en la presente memoria, es descrito el compuesto (I) de la presente invención.

- 15 El compuesto (I) de la presente invención abarca tanto un compuesto representado por la fórmula (I) como un compuesto representado por la fórmula (Ix), que es un tautómero del mismo:

[Fórmula 2]



- 20 En la presente solicitud, un compuesto (I) que incluye cualquiera de esos tautómeros también está representado por la fórmula estructural (I) y su correspondiente nombre químico por razones de conveniencia, a menos que se especifique lo contrario. El compuesto (I) de la presente solicitud también abarca cualquier isómero de un tautómero adicional (ácido amida-imida) del compuesto (I) de la presente invención. En la presente aplicación, un compuesto (I) que incluye cualquier tautómero de este tipo también está representado por la fórmula estructural (I) y su correspondiente nombre químico por propósitos de conveniencia.

- 25 El compuesto (I) de la presente invención tiene un grupo básico y por lo tanto puede formar una sal de adición de ácido con un ácido farmacológicamente aceptable. En la presente invención, los ejemplos de la "sal farmacológicamente aceptable del mismo" pueden incluir: hidrohaluros tal como hidrofluoruro, clorhidrato, bromuro de hidrógeno y yoduro; sales de ácidos inorgánicos tal como nitrato, perclorato, sulfato y fosfato; alcanosulfonatos inferiores tal como metansulfonato, trifluorometanosulfonato y etanosulfonato; arilsulfonatos tal como bencenosulfonato y p-toluenosulfonato; sales de ácidos orgánicos tal como acetato, malato, fumarato, succinato,
- 30 citrato, tartrato, oxalato y maleato; y sales de aminoácidos tal como sal de ornitina, glutamato y aspartato.

El compuesto (I) de la presente invención o la sal farmacológicamente aceptable del mismo, cuando se deja en la atmósfera, puede formar un hidrato al absorber agua. Tales hidratos están también incluidos en el ámbito de la presente invención.

- 35 El compuesto (I) de la presente invención o la sal farmacológicamente aceptable del mismo, cuando se deja en un disolvente, puede formar un disolvente. Tales disolventes también están incluidos en el ámbito de la presente invención.

El compuesto (I) de la presente invención tiene isómeros ópticos basados en el centro asimétrico de la molécula. Estos isómeros del compuesto de la presente invención y las mezclas de estos isómeros están todos representados por una fórmula única, es decir, la fórmula general (I), a menos que se especifique lo contrario. De este modo, debe entenderse

que incluso todos estos isómeros y las mezclas de estos isómeros están incluidos en el ámbito de aplicación de la presente invención.

El compuesto (I) de la presente invención puede contener isótopos de uno o más átomos que constituyan tal compuesto en una proporción no natural. Los ejemplos del isótopo incluyen deuterio (^2H), tritio (^3H), yodo-125 (^{125}I) y carbono-14 (^{14}C). Alternativamente, el compuesto puede ser radiomarcado con un radioisótopo, por ejemplo, tritio (^3H), yodo-125 (^{125}I), o carbono-14 (^{14}C). Ese compuesto radiomarcado es útil como agente terapéutico o profiláctico, como reactivo de investigación, por ejemplo, un reactivo de ensayo, y como agente de diagnóstico, por ejemplo, un agente de diagnóstico por imágenes *in vivo*. Debe entenderse que todas las variantes isotópicas del compuesto de la presente invención están incluidas en el ámbito de aplicación de la presente invención, independientemente de que sean radiactivas o no.

En la presente invención, una sal del compuesto (I) o un hidrato o un disolvente del mismo puede formar una pluralidad de cristales con diferentes estructuras internas y propiedades fisicoquímicas (polimorfos de cristal) dependiendo de las condiciones de reacción y las condiciones de cristalización. Cada uno de estos cristales o una mezcla de los mismos en una proporción arbitraria se incluye en el ámbito de la presente invención. Un sólido cristalino y un sólido amorfo pueden coexistir entre sí. Una mezcla de estos sólidos en una proporción arbitraria está incluida en el ámbito de la presente invención. Específicamente, los cristales de la presente invención que tienen una forma cristalina particular pueden contener cristales que tienen otra forma cristalina o un sólido amorfo. El contenido de la forma de cristal particular es preferentemente 50% o superior, más preferentemente 80% o superior, incluso más preferentemente 90% o superior, más preferentemente 93% o superior, particularmente preferentemente 95% o superior, con máxima preferencia 97% o superior.

En la presente invención, los cristales se refieren a un sólido cuya estructura interna está formada por una repetición tridimensional regular de los átomos constituyentes (o grupos de estos), y se distinguen de un sólido amorfo que no tiene esa estructura interna regular. El hecho de que un determinado sólido sea cristalino puede examinarse mediante procedimientos cristalográficos bien conocidos (por ejemplo, cristalografía de rayos X en polvo y calorimetría de barrido diferencial). Por ejemplo, el sólido determinado se somete a una cristalografía de rayos X en polvo utilizando rayos X obtenidos por exposición a la radiación de cobre $\text{K}\alpha$. Cuando se observa un pico claro en el patrón de difracción de rayos X, se determina que el sólido es cristalino. Cuando no se observa un pico claro, se determina que el sólido es amorfo. Cuando el pico puede leerse, pero no es claro (por ejemplo, el pico es amplio), se determina que el sólido es cristalino. Tales cristales que tienen un bajo grado de cristalinidad están incluidos en los cristales de la presente invención.

En la cristalografía de rayos X en polvo con radiación de cobre $\text{K}\alpha$, una muestra suele estar expuesta a la radiación de cobre $\text{K}\alpha$ (en la que la radiación $\text{K}\alpha_1$ y la radiación $\text{K}\alpha_2$ no están separadas). El patrón de difracción de rayos X puede obtenerse analizando la difracción derivada de la radiación $\text{K}\alpha$, y también puede obtenerse analizando sólo la difracción derivada de la radiación $\text{K}\alpha_1$ aislada de la difracción derivada de la radiación $\text{K}\alpha$. En la presente invención, el patrón de difracción de rayos X en polvo obtenido por exposición a la radiación $\text{K}\alpha$ incluye un patrón de difracción de rayos X obtenido por el análisis de la difracción derivada de la radiación $\text{K}\alpha$, y un patrón de difracción de rayos X obtenido por el análisis de la difracción derivada de la radiación $\text{K}\alpha_1$, y es preferentemente un patrón de difracción de rayos X obtenido por el análisis de la difracción derivada de la radiación $\text{K}\alpha_1$.

Los cristales de hidrato de (+)-4,5-dihidroxi-4-(trifluorometil)-3-{1-[5-(trifluorometil)pirazina-2-il]piperidin-4-il}-1,4,5,7-tetrahidro-6H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona pueden ser, por ejemplo, cristales que exhiben picos principales en espaciados d de 8,86, 7,19, 6,67, 6,07, 5,51, 4,76, 4,61, 3,94, 3,79 y 3,47 angstroms en un patrón de difracción de rayos X en polvo obtenido por exposición a la radiación de cobre $\text{K}\alpha$, como se muestra en la Figura 1. En este contexto, los picos principales son picos que tienen una intensidad relativa de 13 o más cuando la intensidad del pico en el espaciado d de 4,76 angstroms se define como 100. En los patrones de difracción de rayos X de las Figuras 1 a 12 a continuación, la ordenada muestra la intensidad de difracción [recuento/segundo (cps)], y la abscisa muestra el ángulo de difracción 2θ (grado). Además, el espaciado d (angstrom) puede calcularse de acuerdo con la expresión $2d\sin\theta = n\lambda$ en la que $n = 1$. En esta expresión, la longitud de onda λ de la radiación $\text{K}\alpha$ es de 1,54 angstroms, y la longitud de onda λ de la radiación $\text{K}\alpha_1$ es de 1,541 angstroms. La posición y la intensidad relativa del espaciado d pueden variar ligeramente dependiendo de las condiciones de medición, etc. Por lo tanto, aunque el espaciado d sea ligeramente diferente del desvelado en la presente memoria, la identidad de una forma cristalina puede ser confirmada adecuadamente por referencia a todo el patrón del espectro.

Los cristales de hidrato de (+)-4,5-dihidroxi-4-(trifluorometil)-3-{1-[5-(trifluorometil)pirazina-2-il]piperidin-4-il}-1,4,5,7-tetrahidro-6H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona pueden ser, por ejemplo, cristales que exhiben picos principales en espaciados d de 15,28, 7,70, 6,67, 6,17, 5,62, 5,01, 4,58, 4,43, 3,77 y 3,30 angstroms en un patrón de difracción de rayos X en polvo obtenido por exposición a la radiación de cobre $\text{K}\alpha$, como se muestra en la Figura 2. En este contexto, los picos principales son picos que tienen una intensidad relativa de 20 o más cuando la intensidad del pico en el espaciado d de 5,01 angstroms se define como 100.

Los cristales de hidrato de (+)-4,5-dihidroxi-4-(trifluorometil)-3-{1-[5-(trifluorometil)pirazina-2-il]piperidin-4-il}-1,4,5,7-tetrahidro-6H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona pueden ser, por ejemplo, cristales que exhiben picos principales en espaciados d de 14,97, 11,50, 9,84, 9,50, 7,12, 5,73, 5,48, 4,95, 4,46 y 3,81 angstroms en un patrón de difracción de

rayos X en polvo obtenido por exposición a la radiación de cobre K α , como se muestra en la Figura 3. En este contexto, los picos principales son picos que tienen una intensidad relativa de 12 o más cuando la intensidad del pico en el espaciado d de 14,97 angstroms se define como 100.

5 Los cristales de hidrato de (+)-4,5-dihidroxi-4-(trifluorometil)-3-{1-[5-(trifluorometil)pirazina-2-il]piperidin-4-il}-1,4,5,7-tetrahidro-6H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona pueden ser, por ejemplo, cristales que exhiben picos principales en espaciados d de 9,28, 7,28, 6,16, 5,96, 4,99, 4,86, 4,73, 4,53, 3,48 y 3,04 angstroms en un patrón de difracción de rayos X en polvo obtenido por exposición a la radiación de cobre K α , como se muestra en la Figura 4. En este contexto, los picos principales son picos que tienen una intensidad relativa de 11 o más cuando la intensidad del pico en el espaciado d de 4,73 angstroms se define como 100.

10 Los cristales de hidrato de (+)-4,5-dihidroxi-4-(trifluorometil)-3-{1-[5-(trifluorometil)pirazina-2-il]piperidin-4-il}-1,4,5,7-tetrahidro-6H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona pueden ser, por ejemplo, cristales que exhiben picos principales en espaciados d de 18,79, 6,90, 6,21, 5,68, 5,56, 4,79, 4,56, 4,44, 3,76 y 3,44 angstroms en un patrón de difracción de rayos X en polvo obtenido por exposición a la radiación de cobre K α , como se muestra en la Figura 5. En este contexto, los picos principales son picos que tienen una intensidad relativa de 17 o más cuando la intensidad del pico en el espaciado d de 4,79 angstroms se define como 100.

15 Los cristales de hidrato de (+)-cis-5-hidroxi-4-(trifluorometil)-3-{1-[2-(trifluorometil)pirimidin-5-il]piperidin-4-il}-1,4,5,7-tetrahidro-6H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona pueden ser, por ejemplo, cristales que exhiben picos principales en espaciados d de 9,09, 7,94, 7,58, 5,31, 4,97, 4,68, 4,60, 4,50, 3,86 y 3,50 angstroms en un patrón de difracción de rayos X en polvo obtenido por exposición a la radiación de cobre K α , como se muestra en la Figura 6. En este contexto, los picos principales son picos que tienen una intensidad relativa de 20 o más cuando la intensidad del pico en el espaciado d de 4,50 angstroms se define como 100.

20 Los cristales de hidrato de (+)-cis-5-hidroxi-4-(trifluorometil)-3-{1-[2-(trifluorometil)pirimidin-5-il]piperidin-4-il}-1,4,5,7-tetrahidro-6H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona pueden ser, por ejemplo, cristales que exhiben picos principales en espaciados d de 23,99, 5,96, 5,25, 5,19, 5,07, 4,94, 4,68, 4,58, 4,52 y 4,40 angstroms en un patrón de difracción de rayos X en polvo obtenido por exposición a la radiación de cobre K α , como se muestra en la Figura 7. En este contexto, los picos principales son picos que tienen una intensidad relativa de 58 o más cuando la intensidad del pico en el espaciado d de 4,40 angstroms se define como 100.

25 Los cristales de hidrato de (+)-cis-5-hidroxi-4-(trifluorometil)-3-{1-[2-(trifluorometil)pirimidin-5-il]piperidin-4-il}-1,4,5,7-tetrahidro-6H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona pueden ser, por ejemplo, cristales que exhiben picos principales en espaciados d de 15,60, 9,26, 7,14, 5,21, 4,07, 3,88, 3,41, 3,24, 3,11 y 2,70 angstroms en un patrón de difracción de rayos X en polvo obtenido por exposición a la radiación de cobre K α , como se muestra en la Figura 8. En este contexto, los picos principales son picos que tienen una intensidad relativa de 4 o más cuando la intensidad del pico en el espaciado d de 15,60 angstroms se define como 100.

30 Los cristales de hidrato de (+)-cis-5-hidroxi-4-(trifluorometil)-3-{1-[2-(trifluorometil)pirimidin-5-il]piperidin-4-il}-1,4,5,7-tetrahidro-6H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona pueden ser, por ejemplo, cristales que exhiben picos principales en espaciados d de 9,88, 6,11, 5,58, 5,09, 5,01, 4,92, 4,35, 3,83, 3,76 y 3,28 angstroms en un patrón de difracción de rayos X en polvo obtenido por exposición a la radiación de cobre K α , como se muestra en la Figura 9. En este contexto, los picos principales son picos que tienen una intensidad relativa de 30 o más cuando la intensidad del pico en el espaciado d de 4,35 angstroms se define como 100.

35 Los cristales de hidrato de (+)-cis-5-hidroxi-4-(trifluorometil)-3-{1-[2-(trifluorometil)pirimidin-5-il]piperidin-4-il}-1,4,5,7-tetrahidro-6H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona pueden ser, por ejemplo, cristales que exhiben picos principales en espaciados d de 8,29, 5,92, 5,51, 5,30, 4,76, 4,50, 4,26, 3,98, 3,81 y 3,66 angstroms en un patrón de difracción de rayos X en polvo obtenido por exposición a la radiación de cobre K α , como se muestra en la Figura 10. En este contexto, los picos principales son picos que tienen una intensidad relativa de 23 o más cuando la intensidad del pico en el espaciado d de 4,50 angstroms se define como 100.

40 Los cristales de (+)-cis-5R-hidroxi-4R-(trifluorometil)-3-{1-[2-(trifluorometil)pirimidin-5-il]piperidin-4-il}-1,4,5,7-tetrahidro-6H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona no hidratado del compuesto (I) de la presente invención pueden ser, por ejemplo, cristales que exhiben picos principales en espaciados d de 12,00, 8,53, 6,10, 5,42, 4,56, 4,32, 3,83, 3,60, 3,39 y 3,04 angstroms en un patrón de difracción de rayos X en polvo obtenido por exposición a la radiación de cobre K α , como se muestra en la Figura 11. En este contexto, los picos principales son picos que tienen una intensidad relativa de 11 o más cuando la intensidad del pico en el espaciado d de 5,42 angstroms se define como 100.

45 Los cristales de (+)-cis-5R-hidroxi-4R-(trifluorometil)-3-{1-[2-(trifluorometil)pirimidin-5-il]piperidin-4-il}-1,4,5,7-tetrahidro-6H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-un hidrato pueden ser, por ejemplo, cristales que exhiben picos principales en espaciados d de 10,62, 8,93, 8,26, 5,32, 5,25, 4,96, 4,58, 4,52, 4,44 y 3,84 angstroms en un patrón de difracción de rayos X en polvo obtenido por exposición a la radiación de cobre K α , como se muestra en la Figura 12. En este contexto, los picos principales son picos que tienen una intensidad relativa de 28 o más cuando la intensidad del pico en el espaciado d de 10,62 angstroms se define como 100.

Efectos ventajosos de la invención

El cristal del compuesto representado por la fórmula general (I) de la presente invención o la sal farmacológicamente aceptable del mismo tiene un excelente efecto activador del LCAT y es útil como ingrediente activo en un agente terapéutico o profiláctico para arteriosclerosis, cardiopatía arteriosclerótica, cardiopatía coronaria (incluyendo insuficiencia cardíaca), (infarto de miocardio, angina de pecho, isquemia cardíaca, trastornos cardiovasculares y reestenosis causada por angiogénesis), enfermedades cerebrovasculares (incluyendo accidentes cerebrovasculares e infarto cerebral), enfermedades vasculares periféricas (incluyendo complicaciones vasculares diabéticas), dislipidemia, hipercolesterolemia por hipodérmicos o enfermedades renales, en particular, un agente antiarteriosclerótico.

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 es un patrón de difracción de rayos X en polvo de hidrato de (+)-4,5-dihidroxi-4-(trifluorometil)-3-{1-[5-(trifluorometil)pirazina-2-il]piperidin-4-il}-1,4,5,7-tetrahidro-6H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona obtenido en el ejemplo 1.

La Figura 2 es un patrón de difracción de rayos X en polvo de hidrato de (+)-4,5-dihidroxi-4-(trifluorometil)-3-{1-[5-(trifluorometil)pirazina-2-il]piperidin-4-il}-1,4,5,7-tetrahidro-6H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona obtenido en el ejemplo 2.

La Figura 3 es un patrón de difracción de rayos X en polvo de hidrato de (+)-4,5-dihidroxi-4-(trifluorometil)-3-{1-[5-(trifluorometil)pirazina-2-il]piperidin-4-il}-1,4,5,7-tetrahidro-6H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona obtenido en el ejemplo 3.

La Figura 4 es un patrón de difracción de rayos X en polvo de hidrato de (+)-4,5-dihidroxi-4-(trifluorometil)-3-{1-[5-(trifluorometil)pirazina-2-il]piperidin-4-il}-1,4,5,7-tetrahidro-6H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona obtenido en el ejemplo 4.

La Figura 5 es un patrón de difracción de rayos X en polvo de (+)-4,5-dihidroxi-4-(trifluorometil)-3-{1-[5-(trifluorometil)pirazina-2-il]piperidin-4-il}-1,4,5,7-tetrahidro-6H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona obtenido en el ejemplo 5.

La Figura 6 es un patrón de difracción de rayos X en polvo de hidrato de (+)-cis-5-hidroxi-4-(trifluorometil)-3-{1-[2-(trifluorometil)pirimidin-5-il]piperidin-4-il}-1,4,5,7-tetrahidro-6H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona obtenido en el ejemplo 6.

La Figura 7 es un patrón de difracción de rayos X en polvo de hidrato de (+)-cis-5-hidroxi-4-(trifluorometil)-3-{1-[2-(trifluorometil)pirimidin-5-il]piperidin-4-il}-1,4,5,7-tetrahidro-6H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona obtenido en el ejemplo 7.

La Figura 8 es un patrón de difracción de rayos X en polvo de (+)-cis-5-hidroxi-4-(trifluorometil)-3-{1-[2-(trifluorometil)pirimidin-5-il]piperidin-4-il}-1,4,5,7-tetrahidro-6H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona obtenido en el ejemplo 8.

La Figura 9 es un patrón de difracción de rayos X en polvo de (+)-cis-5-hidroxi-4-(trifluorometil)-3-{1-[2-(trifluorometil)pirimidin-5-il]piperidin-4-il}-1,4,5,7-tetrahidro-6H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona obtenido en el ejemplo 9.

La Figura 10 es un patrón de difracción de rayos X en polvo de (+)-cis-5-hidroxi-4-(trifluorometil)-3-{1-[2-(trifluorometil)pirimidin-5-il]piperidin-4-il}-1,4,5,7-tetrahidro-6H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona obtenido en el ejemplo 10.

La Figura 11 es un patrón de difracción de rayos X en polvo de (+)-cis-5R-hidroxi-4R-(trifluorometil)-3-{1-[2-(trifluorometil)pirimidin-5-il]piperidin-4-il}-1,4,5,7-tetrahidro-6H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona obtenido en el ejemplo 11.

La Figura 12 es un patrón de difracción de rayos X en polvo de (+)-cis-5R-hidroxi-4R-(trifluorometil)-3-{1-[2-(trifluorometil)pirimidin-5-il]piperidin-4-il}-1,4,5,7-tetrahidro-6H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-un hidrato obtenido en el ejemplo 12.

La Figura 13 muestra una curva dosis-respuesta para determinar la concentración efectiva del 50% (EC₅₀) de la activación de LCAT en los ejemplos de prueba 1 y 2 de la presente invención.

Descripción de realizaciones

El compuesto (I) de la presente invención puede ser producido por los procedimientos descritos en los Ejemplos.

En el proceso de producción del compuesto (I) de la presente invención, si es necesario, el producto de cada etapa puede ser aislado como el compuesto libre o una sal del mismo de la mezcla de reacción después de la terminación de la reacción por un procedimiento de rutina, por ejemplo, (1) un procedimiento de concentración directa de la solución de reacción, (2) un procedimiento de filtrado de materia insoluble como un catalizador y concentración del filtrado, (3) un procedimiento de adición de agua y un disolvente inmiscible con agua (por ejemplo, dicloroetano, éter dietílico, acetato de etilo o tolueno) a la solución de reacción para extraer un producto, o 4) un procedimiento de recolección de un producto cristalizado o precipitado por filtración. El producto aislado puede ser purificado, si es necesario, mediante un procedimiento de rutina, por ejemplo, recristalización, reprecipitación o diversas técnicas de cromatografía. Alternativamente, el producto de cada etapa puede ser usado en la etapa siguiente sin ser aislado o purificado.

El compuesto (I) de la presente invención es aislado y purificado como el compuesto libre o una sal farmacológicamente aceptable, un hidrato o un solvato del mismo. La sal farmacológicamente aceptable del compuesto (I) de la presente invención puede ser producida a través de una reacción de formación de sal del compuesto (I) por un procedimiento de rutina. El aislamiento y la purificación son llevados a cabo mediante la aplicación de operaciones químicas habituales tal como extracción, concentración, destilación, cristalización, filtración, recristalización o diversas técnicas de cromatografía.

Diversos isómeros pueden ser separados explotando las diferencias en las propiedades físico-químicas entre los isómeros. Por ejemplo, una mezcla racémica puede ser convertida en un isómero ópticamente puro mediante, por ejemplo, la cristalización fraccionada para producir una sal de diastereómero con una base ópticamente activa o un ácido o cromatografía utilizando columna quiral. Además, una mezcla diastereomérica puede ser separada, por ejemplo, mediante cristalización fraccionada o diversas técnicas de cromatografía. Alternativamente, también puede ser producido un compuesto ópticamente activo utilizando un material de partida ópticamente activo adecuado.

Los ejemplos de formas de dosificación del compuesto representado por la fórmula general (I) de la presente invención o la sal farmacológicamente aceptable del mismo pueden incluir: formas de administración oral tal como comprimidos, gránulos, polvos, cápsulas y jarabes; y formas de administración parenteral tal como inyecciones y supositorios. Estas formulaciones pueden ser administradas de manera sistémica o local.

Los ejemplos de medicamentos orales que comprenden el compuesto representado por la fórmula general (I) de la presente invención o la sal farmacológicamente aceptable del mismo incluyen comprimidos, píldoras, gránulos, polvos, cápsulas, soluciones, suspensiones, emulsiones, jarabes y elixires. Los ejemplos de medicamentos parenterales que comprenden el compuesto representado por la fórmula general (I) de la presente invención o la sal farmacológicamente aceptable del mismo incluyen inyecciones, ungüentos, geles, cremas, parches, aerosoles, inhalantes, sprays, gotas para los ojos y supositorios. Los medicamentos en estas formas pueden ser preparados de acuerdo con un procedimiento de rutina utilizando aditivos seleccionados adecuadamente de acuerdo con la necesidad de aditivos farmacológicamente aceptables tal como excipientes, aglutinantes, diluyentes, estabilizadores, antisépticos, colorantes, solubilizantes, agentes de suspensión, tampones y agentes humectantes.

La dosis a la que es administrado el compuesto representado por la fórmula general (I) de la presente invención o la sal farmacológicamente aceptable del mismo difiere según los síntomas, el peso corporal y la edad del receptor (un animal de sangre caliente, por ejemplo, un humano), el procedimiento de administración, etc. Por ejemplo, en el caso de la administración oral, una dosis única es de 0,01 mg/kg de peso corporal (preferentemente 0,03 mg/kg de peso corporal) como límite inferior y 300 mg/kg de peso corporal (preferentemente 100 mg/kg de peso corporal) como límite superior y es deseable que se administre de una a varias veces al día de acuerdo con los síntomas. En caso de administración intravenosa, una dosis única es de 0,01 mg/kg de peso corporal (preferentemente 0,03 mg/kg de peso corporal) como límite inferior y 300 mg/kg de peso corporal (preferentemente 100 mg/kg de peso corporal) como límite superior y es conveniente que se administre de una a varias veces al día de acuerdo con los síntomas.

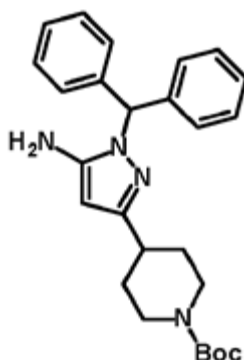
En adelante en la presente memoria, la presente invención será descrita más detalladamente con referencia a los Ejemplos, Ejemplos de Prueba y Ejemplos de Formulación. Sin embargo, el alcance de la presente invención no pretende ser limitado por estos. En los ejemplos presentados a continuación, hexano representa n-hexano; THF representa el tetrahidrofurano; IPA representa 2-propanol; DMF representa N,N'-dimetilformamida; y DMSO representa dimetilsulfóxido.

Ejemplos

(Ejemplo 1 - Referencia) hidrato de (+)-4,5-dihidroxi-4-(trifluorometil)-3-{1-[5-(trifluorometil)pirazina-2-il]piperidin-4-il}-1,4,5,7-tetrahidro-6H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona

(1) 4-[5-amino-1-(difenilmetil)-1H-pirazol-3-il]piperidin-1-carboxilato de terc-butilo

[Fórmula 3]

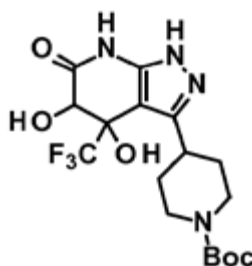


Fue añadido clorhidrato de difenilmetilhidracina (8,57 g, 36,5 mmol) a una solución de 4-(cianoacetil)piperidin-1-carboxilato de terc-butilo (compuesto descrito en el folleto del documento WO2004/14910, 7,1 g, 28 mmol) en etanol (71 ml), y la mezcla fue agitada a 50°C durante 1 hora. La solución de reacción fue concentrada a presión reducida, y el residuo obtenido fue separado en capas orgánicas y acuosas mediante la adición de una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio y acetato de etilo. La capa orgánica fue secada sobre sulfato de magnesio anhidro, y el disolvente fue destilado a presión reducida. El residuo obtenido fue purificado mediante cromatografía en columna de gel de sílice [eluido: hexano/acetato de etilo = 95/5 - 40/60 (gradiente)] para obtener el compuesto del título (7,43 g, rendimiento: 59%).

¹H-RMN (400Hz, CDCl₃) δ: 7,37-7,19 (10H, m), 6,66 (1H, s), 5,40 (1H, s), 4,11 (1H, brs), 3,23-3,20 (1H, m), 2,82-2,65 (3H, m), 1,89-1,86 (2H, m), 1,61-1,52 (4H, m), 1,46 (9H, s).

(2) 4-[4,5-dihidroxi-6-oxo-4-(trifluorometil)-4,5,6,7-tetrahidro-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-3-il]piperidin-1-carboxilato de terc-butilo

[Fórmula 4]



Una solución de etilo 2-trietilsililacetato (compuesto descrito en la bibliografía J. Org. Chem., 2008, Vol. 73, p. 6268-6278, 18,37 g, 84,13 mmol) y etanol (0,1474 ml, 2,524 mmol) en tolueno (40 ml) fue añadida a temperatura ambiente a una suspensión de hidruro de sodio (63% de dispersión en aceite, 5,127 g, 134,6 mmol) en tolueno (80 ml), después fue añadida una solución de trifluoroacetato de etilo (15,07 ml, 126,2 mmol) en tolueno (20 ml), y la mezcla fue agitada durante 5 minutos y luego fue agitada a 80°C durante 30 minutos. A la solución de reacción fue añadida una solución acuosa saturada de cloruro de amonio bajo refrigeración por hielo, seguida de una extracción con acetato de etilo. La capa orgánica obtenida fue lavada con salmuera y secada sobre sulfato de sodio anhidro, y el disolvente fue destilado a presión reducida para obtener un producto de petróleo crudo (23,6 g).

Una solución mixta del producto de petróleo crudo (23,6 g) obtenida por los procedimientos descritos anteriormente y 4-[5-amino-1-(difenilmetil)-1H-pirazol-3-il]piperidin-1-carboxilato de terc-butilo (10,83 g, 25,04 mmol) producido en (1) en etanol (150 ml) y ácido acético (50 ml) fue agitada durante 4 horas bajo calentamiento hasta el reflujo. El disolvente de la solución de reacción fue destilado a presión reducida y fue añadido acetato de etilo al residuo obtenido. La capa orgánica fue lavada con una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio y salmuera en este orden y secada sobre sulfato de sodio anhidro, y el disolvente fue destilado a presión reducida. Fue añadido acetato de etilo y hexano al residuo obtenido, y el precipitado resultante fue recolectado por filtración para obtener un sólido. El disolvente del filtrado fue destilado a continuación a presión reducida. El residuo obtenido fue purificado mediante cromatografía en columna de gel de sílice [eluido: hexano/acetato de etilo = 90/10 - 50/50 (gradiente)] y combinado con el sólido obtenido preliminarmente para obtener un intermediario de síntesis.

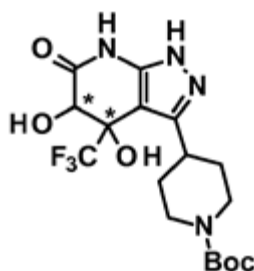
Fue añadido trietilsilano (10,7 ml, 67,4 mmol) y ácido trifluoroacético (90 ml, 1176 mmol) a una suspensión del intermediario de síntesis obtenido por los procedimientos descritos anteriormente en diclorometano (300 ml), y la mezcla fue agitada a temperatura ambiente durante 2 horas. El disolvente de la solución de reacción fue destilado a presión reducida. Al residuo obtenido fue añadido éter dietílico y hexano, y la mezcla fue agitada durante 30 minutos. El precipitado resultante fue recolectado por filtración para obtener un sólido incoloro.

Fue añadida a temperatura ambiente una solución de dicarbonato de di-t-butilo (5,53 g, 25,4 mmol) y trietilamina (4,69 ml, 33,8 mmol) en acetato de etilo (30 ml) a una suspensión mixta del sólido incoloro obtenido por los procedimientos descritos anteriormente en acetato de etilo (120 ml) y THF (40 ml), y la mezcla fue agitada a temperatura ambiente durante 3 horas y se dejó toda la noche a temperatura ambiente tal como estaba. La solución de reacción fue lavada con una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio y salmuera en este orden y secada sobre sulfato de sodio anhidro, y el disolvente fue destilado a presión reducida. El residuo obtenido fue purificado mediante cromatografía en columna de gel de sílice [eluido: hexano/acetato de etilo = 50:50 - 0:100 (gradiente)] para obtener el compuesto del título (3,09 g, rendimiento: 44%).

^1H -RMN (400MHz, DMSO- d_6) δ : 12,24 (1H, s), 10,55 (1H, s), 6,76 (1H, s), 5,65 (1H, d, J=4Hz), 4,33 (1H, brs), 4,13-3,99 (2H, m), 3,20-3,09 (1H, m), 2,84-2,59 (2H, m), 1,84-1,76 (1H, m), 1,66-1,46 (3H, m), 1,42 (9H, s).

(3) Forma ópticamente activa de 4-[4,5-dihidroxi-6-oxo-4-(trifluorometil)-4,5,6,7-tetrahidro-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-3-il]piperidin-1-carboxilato de terc-butilo

[Fórmula 5]



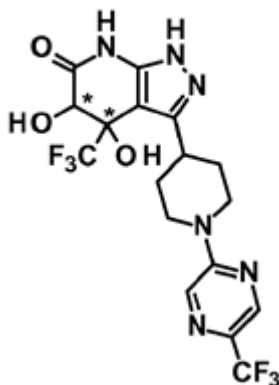
Una solución mixta de 4-[4,5-dihidroxi-6-oxo-4-(trifluorometil)-4,5,6,7-tetrahidro-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-3-il]piperidin-1-carboxilato de terc-butilo (0,79 g, 1,9 mmol) producida en (2) en acetato de etilo y metanol fue adsorbida en un gel de sílice, y el disolvente fue destilado a presión reducida. El polvo obtenido fue purificado por LC flash [columna: Chiralflash IA (30 mm de diámetro interior x 100 mm); fabricada por Daicel Corporation, eluido: hexano/IPA = 90/10, velocidad de flujo: 12 ml/min] para obtener el compuesto del título (0,34 g, rendimiento: 43%, forma ópticamente activa).

La pureza óptica fue medida usando HPLC [columna: Chiralpak IA (4,6 mm de diámetro interior x 250 mm); fabricado por Daicel Corporation, eluido: hexano/IPA = 80/20, velocidad de flujo: 1,0 ml/min].

Pureza óptica: 99% o superior (tiempo de retención: 7,7 min).

(4) (+)-4,5-Dihidroxi-4-(trifluorometil)-3-{1-[5-(trifluorometil)pirazin-2-il]piperidin-4-il}-1,4,5,7-tetrahidro-6H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona

[Fórmula 6]



Fue añadido ácido trifluoroacético (2 ml) a temperatura ambiente a una suspensión de la forma ópticamente activa de 4-[4,5-dihidroxi-6-oxo-4-(trifluorometil)-4,5,6,7-tetrahidro-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-3-il]piperidin-1-carboxilato de terc-butilo (0,34 g, 0,81 mmol) producido en (3) en diclorometano (6 ml), y la mezcla fue agitada durante 2 horas. El disolvente de la solución de reacción fue destilado a presión reducida y el residuo obtenido fue solidificado mediante la adición de éter dietílico y hexano. El disolvente fue eliminado por decantación, y el sólido obtenido se secó a presión reducida para obtener un intermediario de síntesis.

Fueron añadidos a temperatura ambiente 2-cloro-5-(trifluorometil)pirazina (0,15 ml, 1,2 mmol) y N,N-diisopropilamina (0,41 ml, 2,4 mmol) a una solución del intermediario de síntesis obtenido por los procedimientos descritos anteriormente en DMSO (5 ml), y la mezcla fue agitada durante 1 hora y luego se dejó toda la noche tal como estaba. A la solución de reacción fue añadido acetato de etilo. La capa orgánica fue lavada con agua y salmuera en este orden y secada sobre sulfato de sodio anhidro, y el disolvente fue destilado a presión reducida. El residuo obtenido fue purificado mediante cromatografía en columna de gel de sílice [eluido: hexano/acetato de etilo = 50/50 - 0/1000 (gradiente)] para obtener el compuesto del título (0,31 g, rendimiento: 82%, forma ópticamente activa).

La pureza óptica fue medida usando HPLC [columna: Chiralpak IA (4,6 mm de diámetro interior x 250 mm); fabricada por Daicel Corporation, eluido: hexano/IPA = 60/40, velocidad de flujo: 1,0 ml/min].

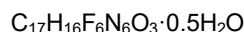
Pureza óptica: 99% o superior (tiempo de retención: 6,7 min); ¹H-RMN (400MHz, DMSO-d₆) δ: 12,21 (1H, s), 10,57 (1H, s), 8,51 (1H, s), 8,50 (1H, s), 6,81 (1H, s), 5,68 (1H, d, J=4Hz), 4,69-4,56 (2H, m), 4,37-4,31 (1H, m), 3,46-3,34 (1H, m), 3,11-2,97 (2H, m), 1,98-1,88 (1H, m), 1,83-1,58 (3H, m); MS (ESI) m/z: 467 (M+H)⁺;

[α]_D²⁵ = +3,9° (DMF, c = 0,924).

(5) Hidrato de (+)-4,5-dihidroxi-4-(trifluorometil)-3-{1-[5-(trifluorometil)pirazina-2-il]piperidin-4-il}-1,4,5,7-tetrahidro-6H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona

Fue añadido tolueno (395 μl) a (+)-4,5-dihidroxi-4-(trifluorometil)-3-{1-[5-(trifluorometil)pirazina-2-il]piperidin-4-il}-1,4,5,7-tetrahidro-6H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona (19,73 mg) producido en (4) a temperatura ambiente. A continuación, la mezcla fue agitada a 40°C durante aproximadamente 20 horas y después fue agitada a temperatura ambiente durante aproximadamente 0,5 horas. El sólido fue recogido por filtración y secado durante la noche a temperatura ambiente para obtener el compuesto del título (15,71 mg). Tasa de recuperación: 78%.

Valor de análisis elemental en términos de



Calculado: C, 42,95; H, 3,60; F, 23,98; N, 17,68.

Hallado: C, 42,97; H, 3,58; F, 23,79; N, 17,21.

La Tabla 1 muestra picos que tienen una intensidad relativa de 13 o más cuando la intensidad de pico más alta en el patrón de difracción de la difracción de rayos X de polvo (CuK α , λ = 1,54 angstroms, velocidad de barrido = 20°/min) en la Figura 1 se define como 100.

(Tabla 1)

Núm. de Pico	2 θ	Valor d	Intensidad relativa
1	9,98	8,86	40
2	12,30	7,19	21
3	13,26	6,67	17
4	14,58	6,07	64
5	16,08	5,51	13
6	18,64	4,76	100
7	19,24	4,61	22
8	22,56	3,94	21
9	23,48	3,79	14
10	25,62	3,47	15

5

(Ejemplo 2 - Referencia) Hidrato de (+)-4,5-dihidroxi-4-(trifluorometil)-3-{1-[5-(trifluorometil)pirazina-2-il]piperidin-4-il}-1,4,5,7-tetrahidro-6H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona

10 (+)-4,5-Dihidroxi-4-(trifluorometil)-3-{1-[5-(trifluorometil)pirazina-2-il]piperidin-4-il}-1,4,5,7-tetrahidro-6H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona (21,21 mg) producido en el ejemplo 1(4) fue disuelto completamente mediante la adición de 1,4-dioxano (2 ml) a temperatura ambiente. Luego, la mezcla fue congelada en un congelador de -80°C, y luego, el disolvente fue eliminado en un liofilizador mientras se cambiaba la temperatura de -45°C a 25°C. Después, el vial de vidrio que contenía el producto liofilizado fue colocado con el vial abierto en un tubo de rosca que contenía agua, y el tubo de rosca fue sellado herméticamente y luego almacenado en un baño de termostato de 25°C durante 3 días. Luego, el vial de vidrio fue retirado de allí y secado al aire durante la noche para obtener el compuesto del título.

15 Valor de análisis elemental en términos de



Calculado: C, 40,94; H, 3,96; F, 22,85; N, 16,85.

20 Hallado: C, 40,63; H, 3,83; F, 23,11; N, 16,57.

La Tabla 2 muestra picos que tienen una intensidad relativa de 20 o más cuando la intensidad de pico más alta en el patrón de difracción de la difracción de rayos X de polvo (CuK α , λ = 1,54 angstroms, velocidad de barrido = 20°/min) en la Figura 2 se define como 100.

25

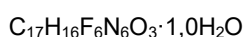
(Tabla 2)

Núm. de Pico	2θ	Valor d	Intensidad relativa
1	5,78	15,28	28
2	11,48	7,70	66
3	13,26	6,67	24
4	14,34	6,17	32
5	15,76	5,62	20
6	17,68	5,01	100
7	19,36	4,58	34
8	20,04	4,43	52
9	23,58	3,77	43
10	26,98	3,30	30

(Ejemplo 3 - Referencia) Hidrato de (+)-4,5-dihidroxi-4-(trifluorometil)-3-{1-[5-(trifluorometil)pirazina-2-il]piperidin-4-il}-1,4,5,7-tetrahidro-6H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona

- 5 Fue añadido nitrometano (200 µl) a (+)-4,5-dihidroxi-4-(trifluorometil)-3-{1-[5-(trifluorometil)pirazina-2-il]piperidin-4-il}-1,4,5,7-tetrahidro-6H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona (19,97 mg) producido en el ejemplo 1(4) a temperatura ambiente. Después, la mezcla fue agitada a 10°C durante aproximadamente 20 horas y luego fue agitada a temperatura ambiente durante aproximadamente 0,5 horas. El sólido fue recogido por filtración y secado durante la noche a temperatura ambiente para obtener el compuesto del título (12,78 mg). Tasa de recuperación: 62%.

- 10 Valor de análisis elemental en términos de



Calculado: C, 42,16; H, 3,75; F, 23,53; N, 17,35.

- 15 Hallado: C, 42,47; H, 3,46; F, 23,65; N, 17,39.

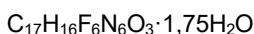
La Tabla 3 muestra picos que tienen una intensidad relativa de 12 o más cuando la intensidad de pico más alta en el patrón de difracción de la difracción de rayos X de polvo ($\text{CuK}\alpha$, $\lambda = 1,54$ angstroms, velocidad de barrido = 20°/min) en la Figura 3 se define como 100.

(Tabla 3)

Núm. de Pico	2θ	Valor d	Intensidad relativa
1	5,90	14,97	100
2	7,68	11,50	22
3	8,98	9,84	63
4	9,30	9,50	57
5	12,42	7,12	14
6	15,46	5,73	72
7	16,16	5,48	15
8	17,90	4,95	14
9	19,90	4,46	25
10	23,30	3,81	12

(Ejemplo 4 - Referencia) Hidrato de (+)-4,5-dihidroxi-4-(trifluorometil)-3-{1-[5-(trifluorometil)pirazina-2-il]piperidin-4-il}-1,4,5,7-tetrahidro-6H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona

- 5 Fue añadida agua (393 µl) a (+)-4,5-dihidroxi-4-(trifluorometil)-3-{1-[5-(trifluorometil)pirazina-2-il]piperidin-4-il}-1,4,5,7-tetrahidro-6H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona (19,64 mg) producida en el ejemplo 1(4) a temperatura ambiente. Después, la mezcla fue agitada a 40°C durante aproximadamente 20 horas y luego fue agitada a temperatura ambiente durante aproximadamente 0,5 horas. El sólido fue recogido por filtración y luego fue secado durante la noche a temperatura ambiente para obtener el compuesto del título (14,93 mg). Tasa de recuperación: 71%.
- 10 Valor de análisis elemental en términos de



- 15 Calculado: C, 41,01; H, 3,95; F, 22,90; N, 16,88.
Hallado: C, 40,95; H, 3,81; F, 23,24; N, 16,66.

- 20 La Tabla 4 muestra picos que tienen una intensidad relativa de 11 o más cuando la intensidad de pico más alta en el patrón de difracción de la difracción de rayos X de polvo (CuKα, λ = 1,54 angstroms, velocidad de barrido = 20°/min) en la Figura 4 se define como 100.

(Tabla 4)

Núm. de Pico	2 θ	Valor d	Intensidad relativa
1	9,52	9,28	94
2	12,14	7,28	20
3	14,36	6,16	11
4	14,86	5,96	42
5	17,76	4,99	18
6	18,24	4,86	17
7	18,74	4,73	100
8	19,56	4,53	14
9	25,60	3,48	14
10	29,32	3,04	11

(Ejemplo 5 - Referencia) (+)-4,5-Dihidroxi-4-(trifluorometil)-3-{1-[5-(trifluorometil)pirazina-2-il]piperidin-4-il}-1,4,5,7-tetrahidro-6H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona

- 5 (+)-4,5-Dihidroxi-4-(trifluorometil)-3-{1-[5-(trifluorometil)pirazina-2-il]piperidin-4-il}-1,4,5,7-tetrahidro-6H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona (20,40 mg) producido en el ejemplo 1(4) fue tratado por calentamiento a 250°C en un aparato de análisis térmico, y luego le fue añadido tolueno (408 μ l) a temperatura ambiente. Después, la mezcla fue agitada a 10°C durante aproximadamente 20 horas y después fue agitada a temperatura ambiente durante aproximadamente 0,5 horas. El sólido fue recogido por filtración y luego fue secado durante la noche a temperatura ambiente para obtener el compuesto del título (13,53 mg). Tasa de recuperación: 66%.
- 10

Valor de análisis elemental en términos de C₁₇H₁₆F₆N₆O₃

Calculado: C, 43,78; H, 3,46; F, 24,44; N, 18,02.

Hallado: C, 43,58; H, 3,41; F, 24,17; N, 17,78.

- 15 La Tabla 5 muestra picos que tienen una intensidad relativa de 17 o más cuando la intensidad de pico más alta en el patrón de difracción de la difracción de rayos X de polvo (CuK α , λ = 1,54 angstroms, velocidad de barrido = 20°/min) en la Figura 5 se define como 100.

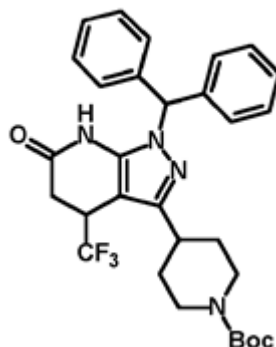
(Tabla 5)

Núm. de Pico	2θ	Valor d	Intensidad relativa
1	4,70	18,79	17
2	12,82	6,90	25
3	14,26	6,21	26
4	15,60	5,68	26
5	15,94	5,56	34
6	18,50	4,79	100
7	19,44	4,56	55
8	19,98	4,44	20
9	23,66	3,76	26
10	25,90	3,44	44

(Ejemplo 6 - Referencia) Hidrato de (+)-cis-5-hidroxi-4-(trifluorometil)-3-{1-[2-(trifluorometil)pirimidin-5-il]piperidin-4-il}-1,4,5,7-tetrahidro-6H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona

- 5 (1) 4-[1-(difenilmetil)-6-oxo-4-(trifluorometil)-4,5,6,7-tetrahidro-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-3-il]piperidin-1-carboxilato de terc-butilo

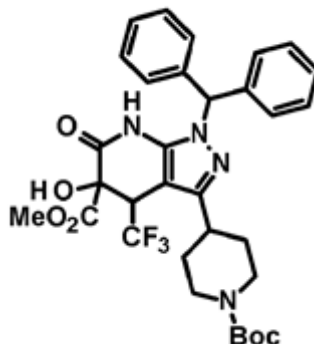
[Fórmula 7]



- 10 Fue añadido trifluoroacetaldehído etilhemiacetal (2,78 g, 17,3 mmol) a una solución de 4-[5-amino-1-(difenilmetil)-1H-pirazol-3-il]piperidin-1-carboxilato de terc-butilo (2,50 g, 5,78 mmol) producida en el Ejemplo 1(1) y ácido de Meldrum (2,50 g, 17,3 mmol) en etanol (50 ml), y la mezcla fue agitada durante 3 horas bajo calentamiento hasta el reflujo. El disolvente de la solución de reacción fue destilado a presión reducida. El residuo obtenido fue purificado mediante cromatografía en columna de gel de sílice [NH-gel de sílice, eluido: hexano/acetato de etilo = 95/5 - 50/50 (gradiente)], y fue recolectada una fracción que contenía el compuesto de interés y pulverizada con acetato de etilo y hexano para obtener el compuesto del título (1,48 g, rendimiento: 46%).
- 15 ¹H-RMN (400Hz, CDCl₃) δ: 7,44-7,12 (10H, m), 6,69 (1H, s), 4,13 (1H, brs), 3,65-3,55 (1H, m), 2,95-2,69 (7H, m), 1,87-1,55 (4H, m), 1,45 (9H, s).

(2) 3-[1-(terc-butoxicarbonil)piperidin-4-il]-1-(difenilmetil)-5-hidroxi-6-oxo-4-(trifluorometil)-4,5,6,7-tetrahidro-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-5-carboxilato de metilo

[Fórmula 8]

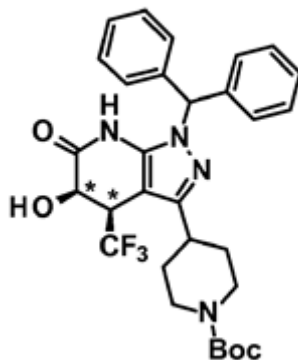


Diisopropilamida de litio (solución en hexano y THF, 14,5 ml, 15,8 mmol) fue añadida gota a gota a -78°C a una solución de 4-[1-(difenilmetil)-6-oxo-4-(trifluorometil)-4,5,6,7-tetrahidro-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-3-il]piperidin-1-carboxilato de terc-butilo (2,92 g, 5,27 mmol) producida en (1) y dimetilcarbonato (0,665 ml, 7,90 mmol) en THF (50 ml). Después de retirar el baño de enfriamiento, la mezcla fue agitada durante 30 minutos mientras su temperatura se elevaba espontáneamente. A la solución de reacción fue añadida una solución acuosa saturada de cloruro de amonio, seguida de una extracción con acetato de etilo tres veces. La capa orgánica obtenida fue secada sobre sulfato de magnesio, y el disolvente fue destilado a presión reducida. El residuo obtenido fue purificado mediante cromatografía de gel de sílice [NH-gel de sílice, eluido: diclorometano/metanol = 100/0 - 90/10 (gradiente)] para obtener un intermediario de síntesis.

1,8-Diazabicyclo[5.4.0]-7-undeceno (en adelante en la presente memoria, denominado DBU; 1,57 ml, 10,5 mmol), (1S)-(+)-(10-camforsulfonyl)oxaziridina (0,725 g, 3,16 mmol), y (1R)-(-)-(10-camforsulfonyl)oxaziridina (0,725 g, 3,16 mmol) fueron añadidos a una solución del intermediario de síntesis obtenido por los procedimientos descritos anteriormente en THF (50 ml), y la mezcla fue agitada a temperatura ambiente durante 2 horas. A la solución de reacción fue añadida una solución acuosa saturada de cloruro de amonio, seguida de una extracción con acetato de etilo. La capa orgánica obtenida fue lavada con una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio y salmuera en este orden y secada sobre sulfato de sodio anhidro, y el disolvente fue destilado a presión reducida. El residuo obtenido fue purificado mediante cromatografía en columna de gel de sílice [eluido: diclorometano/metanol = 99/1 - 90/10 (gradiente)] para obtener el compuesto del título (2,77 g, rendimiento: 84%).
¹H-RMN (400MHz, DMSO-d₆) δ: 11,52 (1H, s), 7,38-7,17 (10H, m), 6,86 (1H, s), 4,12-3,89 (3H, m), 3,73 (3H, s), 2,89-2,67 (3H, m), 1,81-1,29 (4H, m), 1,39 (9H, s).

(3) (+)-4-[cis-1-(difenilmetil)-5-hidroxi-6-oxo-4-(trifluorometil)-4,5,6,7-tetrahidro-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-3-il]piperidin-1-carboxilato de terc-butilo

[Fórmula 9]



Fue añadido hidróxido de litio monohidratado (0,873 g, 20,8 mmol) a una solución mixta de 3-[1-(terc-butoxicarbonil)piperidin-4-il]-1-(difenilmetil)-5-hidroxi-6-oxo-4-(trifluorometil)-4,5,6,7-tetrahidro-1H-pirazolo[3,4-

b]piridin-5-carboxilato de metilo (4,36 g, 6,94 mmol) producida en (2) en 1,4-dioxano (50 ml) y agua (20 ml), y la mezcla fue agitada a 50°C durante 1 hora. La solución de reacción fue enfriada a temperatura ambiente y fue añadida una solución acuosa saturada de cloruro de amonio, seguida de una extracción con acetato de etilo. La capa orgánica obtenida fue lavada con una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio y salmuera en este orden y secada sobre sulfato de sodio anhidro, y el disolvente fue destilado bajo presión reducida. El residuo obtenido fue purificado mediante cromatografía en columna de gel de sílice [eluido: hexano/acetato de etilo = 95/5 - 50/50 (gradiente)] para obtener un intermediario de síntesis.

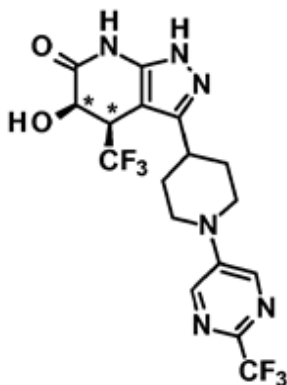
Una porción (1,23 g) del intermediario de síntesis obtenido por los procedimientos descritos anteriormente fue disuelta en acetato de etilo. A la solución le fue añadido un gel de sílice neutro para su adsorción, y el disolvente fue destilado a presión reducida. El polvo obtenido fue purificado por LC flash [columna: Chiralflash IC (30 mm de diámetro interior x 100 mm); fabricada por Daicel Corporation, eluido: hexano/etanol = 91/9, velocidad de flujo: 12 ml/min] para obtener el compuesto del título (0,55 g, rendimiento: 27%, forma ópticamente activa).

La pureza óptica fue medida usando HPLC [columna: Chiralpak IA (4,6 mm de diámetro interior x 250 mm); fabricada por Daicel Corporation, eluido: hexano/IPA = 70/30, velocidad de flujo: 1,0 ml/min].

Pureza óptica: 99% o superior (tiempo de retención: 4,3 min); ¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 11,21 (1H, s), 7,37-7,15 (10H, m), 6,74 (1H, s), 5,79 (1H, d, J = 4 Hz), 4,57-4,54 (1H, m), 4,16-3,90 (3H, m), 2,86-2,39 (3H, m), 1,83-1,35 (4H, m), 1,39 (9H, s); [α]_D²⁵ = +35° (DMF, c = 1,00).

(4) (+)-cis-5-Hidroxi-4-(trifluorometil)-3-{1-[2-(trifluorometil)pirimidin-5-Il]piperidin-4-Il}-1,4,5,7-tetrahidro-6H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona

[Fórmula 10]



Fue añadido clorotrimetilsilano (0,31 ml, 2,5 mmol) y yoduro de sodio (0,31 g, 2,1 mmol) a una solución mixta de (+)-4-[cis-1-(difenilmetil)-5-hidroxi-6-oxo-4-(trifluorometil)-4,5,6,7-tetrahidro-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-3-Il]piperidin-1-carboxilato de terc-butilo (0,52 g, 0,91 mmol) producido en (3) en diclorometano (25 ml) y acetonitrilo (10 ml), y la mezcla fue agitada a temperatura ambiente durante 2 horas. El disolvente de la solución de reacción fue destilado a presión reducida y el residuo fue separado en capas orgánicas y acuosas mediante la adición de una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio y acetato de etilo. La capa orgánica obtenida fue lavada con salmuera y secada sobre sulfato de sodio anhidro, y el disolvente fue destilado a presión reducida.

Fueron añadidos 5-cloro-2-(trifluorometil)pirimidina (0,37 ml, 2,0 mmol) y DBU (0,62 ml, 4,2 mmol) a una solución del residuo obtenido en DMSO (30 ml), y la mezcla fue agitada a 70°C durante 18 horas. La solución de reacción fue diluida con acetato de etilo, lavada con agua y salmuera en este orden, y secada sobre sulfato de sodio anhidro, y el disolvente fue destilado a presión reducida. El residuo obtenido fue purificado mediante cromatografía en columna de gel de sílice [eluido: hexano/acetato de etilo = 95/5 - 50/50 (gradiente)] para obtener un intermediario de síntesis.

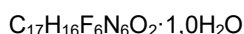
Fueron añadidos trietilsilano (0,200 ml, 1,26 mmol) y ácido trifluoroacético (1,0 ml, 13 mmol) a una solución del intermediario de síntesis obtenido por los procedimientos descritos anteriormente en diclorometano (3 ml), y la mezcla fue agitada a temperatura ambiente durante 1 hora. El disolvente de la solución de reacción fue destilado y el residuo fue separado en capas orgánicas y acuosas mediante la adición de acetato de etilo y una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio. La capa orgánica obtenida fue lavada con salmuera y secada sobre sulfato de sodio anhidro, y el disolvente fue destilado a presión reducida. El residuo obtenido fue purificado mediante cromatografía en columna de gel de sílice [eluido: acetato de etilo/metanol = 50/50 - 0/100 (gradiente)] para obtener el compuesto del título (0,11 g, rendimiento: 26%, forma ópticamente activa).

¹H-RMN (400MHz, DMSO-d₆)δ: 12,22 (1H, s), 10,55 (1H, s), 8,67 (2H, s), 5,53 (1H, d, J=3Hz), 4,44 (1H, d, J=6Hz), 4,25-4,10 (3H, m), 3,14-2,95 (3H, m), 1,93-1,38 (4H, m); MS (ESI) m/z: 451 (M+H)⁺: [α]_D²⁵ = +7,2° (DMF, c = 1,00).

5 **(5) Hidrato de (+)-cis-5-hidroxi-4-(trifluorometil)-3-{1-[2-(trifluorometil)pirimidin-5-il]piperidin-4-il}-1,4,5,7-tetrahidro-6H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona**

10 Fue añadida agua (399 µl) a (+)-cis-5-hidroxi-4-(trifluorometil)-3-{1-[2-(trifluorometil)pirimidin-5-il]piperidin-4-il}-1,4,5,7-tetrahidro-6H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona (19,93 mg) producida en (4) a temperatura ambiente, y luego, la mezcla fue agitada a 40°C durante aproximadamente 20 horas y después fue agitada a temperatura ambiente durante aproximadamente 0,5 horas. El sólido fue recogido por filtración y luego fue secado durante la noche a temperatura ambiente para obtener el compuesto del título (17,63 mg). Tasa de recuperación: 85%.

Valor de análisis elemental en términos de



Calculado: C, 43,60; H, 3,87; F, 24,34; N, 17,94.

15 Hallado: C, 43,64; H, 3,87; F, 24,35; N, 17,68.

La Tabla 6 muestra picos que tienen una intensidad relativa de 20 o más cuando la intensidad de pico más alta en el patrón de difracción de la difracción de rayos X de polvo (CuKα, λ = 1,54 angstroms, velocidad de barrido = 20°/min) en la Figura 6 se define como 100.

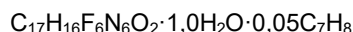
20 (Tabla 6)

Núm. de Pico	2θ	Valor d	Intensidad relativa
1	9,72	9,09	71
2	11,14	7,94	34
3	11,66	7,58	22
4	16,68	5,31	54
5	17,84	4,97	39
6	18,94	4,68	29
7	19,26	4,60	68
8	19,70	4,50	100
9	23,00	3,86	20
10	25,42	3,50	94

(Ejemplo 7 - Referencia) Hidrato de (+)-cis-5-hidroxi-4-(trifluorometil)-3-{1-[2-(trifluorometil)pirimidin-5-il]piperidin-4-il}-1,4,5,7-tetrahidro-6H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona

Fue añadido tolueno (407 µl) a (+)-cis-5-hidroxi-4-(trifluorometil)-3-{1-[2-(trifluorometil)pirimidin-5-il]piperidin-4-il}-1,4,5,7-tetrahidro-6H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona (20,37 mg) producido en el ejemplo 6 (4) a temperatura ambiente y, después, la mezcla fue agitada a 40°C durante aproximadamente 20 horas y, después, fue agitada a temperatura ambiente durante aproximadamente 0,5 horas. El sólido fue recogido por filtración y luego fue secado durante la noche a temperatura ambiente para obtener el compuesto del título (18,10 mg). Tasa de recuperación: 85%.

Valor de análisis elemental en términos de



Calculado: C, 44,06; H, 3,92; F, 24,10; N, 17,77.

Hallado: C, 44,27; H, 3,67; F, 24,37; N, 17,54.

La Tabla 7 muestra picos que tienen una intensidad relativa de 58 o más cuando la intensidad de pico más alta en el patrón de difracción de la difracción de rayos X de polvo (CuKα, λ = 1,54 angstroms, velocidad de barrido = 20°/min) en la Figura 7 se define como 100.

(Tabla 7)

Núm. de Pico	2θ	Valor d	Intensidad relativa
1	3,68	23,99	86
2	14,86	5,96	58
3	16,86	5,25	59
4	17,06	5,19	64
5	17,48	5,07	68
6	17,94	4,94	90
7	18,94	4,68	67
8	19,36	4,58	77
9	19,62	4,52	62
10	20,18	4,40	100

(Ejemplo 8 - Referencia) (+)-cis-5-hidroxi-4-(trifluorometil)-3-{1-[2-(trifluorometil)pirimidin-5-il]piperidin-4-il}-1,4,5,7-tetrahidro-6H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona

Fue añadido tolueno (402 µl) a (+)-cis-5-hidroxi-4-(trifluorometil)-3-{1-[2-(trifluorometil)pirimidin-5-il]piperidin-4-il}-1,4,5,7-tetrahidro-6H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona (20,08 mg) producido en el ejemplo 6(4) a temperatura ambiente, y luego, la mezcla fue agitada a 60°C durante aproximadamente 20 horas y después fue agitada a temperatura ambiente durante aproximadamente 0,5 horas. El sólido fue recogido por filtración y luego fue secado durante la noche a temperatura ambiente para obtener el compuesto del título (16,13 mg). Tasa de recuperación: 80%.

Valor de análisis elemental en términos de $C_{17}H_{16}F_6N_6O_2$

Calculado: C, 45,34; H, 3,58; F, 25,31; N, 18,66.

Hallado: C, 45,45; H, 3,61; F, 25,27; N, 18,28.

La Tabla 8 muestra picos que tienen una intensidad relativa de 4 o más cuando la intensidad de pico más alta en el patrón de difracción de la difracción de rayos X de polvo (CuK α , λ = 1,54 angstroms, velocidad de barrido = 20°/min) en la Figura 8 se define como 100.

5 (Tabla 8)

Núm. de Pico	2 θ	Valor d	Intensidad relativa
1	5,66	15,60	100
2	9,54	9,26	4
3	12,38	7,14	12
4	17,00	5,21	69
5	21,82	4,07	15
6	22,90	3,88	4
7	26,12	3,41	4
8	27,50	3,24	10
9	28,72	3,11	4
10	33,10	2,70	9

(Ejemplo 9 - Referencia) (+)-cis-5-Hidroxi-4-(trifluorometil)-3-{1-[2-(trifluorometil)pirimidin-5-il]piperidin-4-il}-1,4,5,7-tetrahidro-6H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona

10 (+)-cis-5-Hidroxi-4-(trifluorometil)-3-{1-[2-(trifluorometil)pirimidin-5-il]piperidin-4-il}-1,4,5,7-tetrahidro-6H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona (20,58 mg) producido en el Ejemplo 6(4) fue tratado por calentamiento a 280°C en un aparato de análisis térmico y luego fue añadido tolueno (412 μ l) a temperatura ambiente. Después, la mezcla fue agitada a 10°C durante aproximadamente 20 horas y después fue agitada a temperatura ambiente durante aproximadamente 0,5 horas. El sólido fue recogido por filtración y luego fue secado durante la noche a temperatura ambiente para obtener el compuesto del título (17,95 mg). Tasa de recuperación: 87%.

15 Valor de análisis elemental en términos de C₁₇H₁₆F₆N₆O₂

Calculado: C, 45,34; H, 3,58; F, 25,31; N, 18,66.

Hallado: C, 45,18; H, 3,50; F, 25,46; N, 18,38.

20 La Tabla 9 muestra picos que tienen una intensidad relativa de 30 o más cuando la intensidad de pico más alta en el patrón de difracción de la difracción de rayos X de polvo (CuK α , λ = 1,54 angstroms, velocidad de barrido = 20°/min) en la Figura 9 se define como 100.

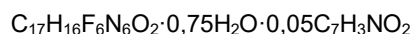
(Tabla 9)

Núm. de Pico	2θ	Valor d	Intensidad relativa
1	8,94	9,88	72
2	14,48	6,11	62
3	15,86	5,58	74
4	17,42	5,09	30
5	17,70	5,01	34
6	18,00	4,92	93
7	20,38	4,35	100
8	23,20	3,83	38
9	23,64	3,76	57
10	27,16	3,28	31

(Ejemplo 10 - Referencia) (+)-cis-5-Hidroxi-4-(trifluorometil)-3-{1-[2-(trifluorometil)pirimidin-5-il]piperidin-4-il}-1,4,5,7-tetrahidro-6H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona

- 5 (+)-cis-5-Hidroxi-4-(trifluorometil)-3-{1-[2-(trifluorometil)pirimidin-5-il]piperidin-4-il}-1,4,5,7-tetrahidro-6H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona producida en el Ejemplo 6(4) fue tratada por calentamiento a 280°C en un aparato de análisis térmico. Al espécimen resultante (57,12 mg) le fue añadido nitrometano (571 µl) a temperatura ambiente. Después, la mezcla fue agitada a 10°C durante aproximadamente 4 horas y después fue agitada a temperatura ambiente durante aproximadamente 1,5 horas. El sólido fue recogido por filtración y luego fue secado durante la noche a temperatura ambiente para obtener el compuesto del título (27,81 mg). Tasa de recuperación: 49%.
- 10

Valor de análisis elemental en términos de



Calculado: C, 43,86; H, 3,81; F, 24,41; N, 18,15.

- 15 Hallado: C, 43,59; H, 3,57; F, 24,65; N, 18,28.

La Tabla 10 muestra picos que tienen una intensidad relativa de 23 o más cuando la intensidad de pico más alta en el patrón de difracción de la difracción de rayos X de polvo (CuKα, λ = 1,54 angstroms, velocidad de barrido = 20°/min) en la Figura 10 se define como 100.

(Tabla 10)

Núm. de Pico	2 θ	Valor d	Intensidad relativa
1	10,66	8,29	26
2	14,96	5,92	83
3	16,06	5,51	51
4	16,70	5,30	38
5	18,64	4,76	27
6	19,70	4,50	100
7	20,84	4,26	48
8	22,30	3,98	23
9	23,34	3,81	23
10	24,28	3,66	38

(Ejemplo 11) (+)-cis-5R-Hidroxi-4R-(trifluorometil)-3-{1-[2-(trifluorometil)pirimidin-5-Il]piperidin-4-Il}-1,4,5,7-tetrahidro-6H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona

- 5 (+)-cis-5-Hidroxi-4-(trifluorometil)-3-{1-[2-(trifluorometil)pirimidin-5-il]piperidin-4-Il}-1,4,5,7-tetrahidro-6H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona (20,07 mg) producida en el Ejemplo 6(4) fue disuelta completamente mediante la adición de acetona (200 μ l). Después, la acetona fue destilada en un concentrador centrífugo y fue añadido acetato de n-butilo (200 μ l) al residuo. Después, la mezcla fue agitada a 40°C durante aproximadamente 4 horas y a temperatura ambiente durante aproximadamente 0,5 horas, y el sólido precipitado fue recogido por filtración y luego secado durante la noche a temperatura ambiente para obtener el compuesto del título (14,43 mg). Tasa de recuperación: 72%.

Valor de análisis elemental en términos de C₁₇H₁₆F₆N₆O₂

Calculado: C, 45,34; H, 3,58; F, 25,31; N, 18,66.

Hallado: C, 45,27; H, 3,46; F, 25,47; N, 18,40.

- 15 La Tabla 11 muestra picos que tienen una intensidad relativa de 11 o mayor cuando la intensidad de pico más alta en el patrón de difracción de la difracción de rayos X de polvo (CuK α , λ = 1,54 angstroms, velocidad de barrido = 20°/min) en la Figura 11 se define como 100.

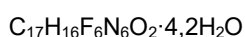
(Tabla 11)

Núm. de Pico	2θ	Valor d	Intensidad relativa
1	7,36	12,00	18
2	10,36	8,53	31
3	14,52	6,10	15
4	16,34	5,42	100
5	19,46	4,56	46
6	20,52	4,32	11
7	23,20	3,83	59
8	24,70	3,60	29
9	26,24	3,39	13
10	29,38	3,04	15

(Ejemplo 12 - Referencia) Hidrato de (+)-cis-5R-hidroxi-4R-(trifluorometil)-3-{1-[2-(trifluorometil)pirimidin-5-il]piperidin-4-il}-1,4,5,7-tetrahidro-6H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona

- 5 Fue añadido etanol acuoso al 60% (200 µl) a (+)-cis-5-hidroxi-4-(trifluorometil)-3-{1-[2-(trifluorometil)pirimidin-5-il]piperidin-4-il}-1,4,5,7-tetrahidro-6H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona (20,23 mg) producida en el Ejemplo 6(4), y la mezcla fue agitada a 25°C durante aproximadamente 24 horas y a temperatura ambiente durante aproximadamente 0,5 horas. El sólido precipitado fue recogido por filtración y luego secado durante la noche a temperatura ambiente para obtener el compuesto del título (19,20 mg). Tasa de recuperación: 82%.

- 10 Valor de análisis elemental en términos de



Calculado: C, 38,82; H, 4,68; F, 21,67; N, 15,98.

Hallado: C, 38,62; H, 4,56; F, 21,90; N, 15,82.

- 15 La Tabla 12 muestra picos que tienen una intensidad relativa de 28 o más cuando la intensidad de pico más alta en el patrón de difracción de la difracción de rayos X de polvo ($\text{CuK}\alpha$, $\lambda = 1,54$ angstroms, velocidad de barrido = 20°/min) en la Figura 12 se define como 100.

(Tabla 12)

Núm. de Pico	2θ	Valor d	Intensidad relativa
1	8,32	10,62	100
2	9,90	8,93	91
3	10,70	8,26	45
4	16,66	5,32	29
5	16,68	5,25	28
6	17,88	4,96	35
7	19,36	4,58	43
8	19,62	4,52	62
9	19,96	4,44	79
10	23,16	3,84	30

(Ejemplo de Prueba 1 - Referencia) Medición (*in vitro*) de la actividad de LCAT

- 5 Una fracción compuesta de HDL3 ($1,125 < \text{gravedad específica} < 1,210 \text{ g/ml}$) fue obtenida del plasma de una persona sana por centrifugación de gradiente de densidad. La fracción obtenida fue dializada contra una solución salina tamponada con fosfato (pH 7,4) y utilizada como fuente de enzimas y como aceptador de LCAT. Cada fármaco de prueba fue preparado por disolución en dimetil sulfoxido. Fue añadido $[^{14}\text{C}]$ colesterol que contenía DTNB (reactivo de Ellman, concentración final: 0,5 mM), mercaptoetanol (concentración final: 12,5 mM) y 0,6% de albúmina de suero
- 10 fue añadido a concentraciones variables para ajustar la cantidad total a 80 μL . Esta mezcla fue incubada a 37°C durante aproximadamente 16 horas. Luego fue añadida una solución mixta de hexano e isopropanol (proporción de mezcla = 3:2) para detener la reacción. Tras la agitación, fue recogida la capa de hexano, y esta capa fue evaporada a secada. Fue añadida una solución de cloroformo (concentración: 10 mg/ml), y la mezcla fue colocada en una placa de gel de sílice de capa fina y fue desarrollada usando una solución mixta de hexano, éter dietílico y acetato de etilo
- 15 (proporción de mezcla = 85:15:2). La radiactividad de una porción correspondiente al oleato de colesterol fue medida utilizando un analizador de imágenes BAS-2500 (fabricado por Fujifilm Corp.). Una muestra no complementada con el fármaco de prueba fue tratada y probada de manera similar. El valor EC_{50} de la activación de LCAT fue calculado de acuerdo con la expresión presentada a continuación con relación a la actividad de LCAT en la muestra no suplementada con el fármaco de prueba. Los resultados son mostrados en la Tabla 13.

[Expresión 1]

$$Y = \text{Inferior} + \frac{(\text{Superior-Inferior})}{1 + 10^{\text{Log EC}_{50} - X}}$$

20

en la que X representa el logaritmo de la concentración del fármaco de prueba;

Y representa la respuesta (actividad LCAT) del fármaco de prueba;

La parte superior representa el valor máximo (meseta máxima);

25

La parte inferior representa el valor mínimo (meseta mínima); y

EC₅₀ representa la concentración efectiva del 50%.

(Tabla 13)

Compuesto de prueba	EC ₅₀ (μM)
Compuesto de Ejemplo 1(4)	0,004
Compuesto de Ejemplo 6(4)	0,018

(Ejemplo de prueba 2 - Referencia) Medición (plasma) de la actividad de LCAT

- 5 El plasma de un ser humano, un mono cynomolgus, o un ratón transgénico LCAT humano es usado como fuente de enzimas y como aceptador de LCAT. Cada fármaco de prueba es preparado por disolución en dimetil sulfoxido. Es añadido [¹⁴C]colesterol que contiene DTNB (reactivo de Ellman, concentración final: 0,5 mM), mercaptoetanol (concentración final: 12,5 mM) y 0,6% de albúmina de suero bovino a 5 μL de cada plasma y 45 μL de PBS, y es
- 10 añadido el fármaco de prueba a diferentes concentraciones para ajustar la cantidad total a 80 μL. Esta mezcla es incubada a 37°C durante aproximadamente 16 horas. Luego, es añadida una solución mixta de hexano e isopropanol (proporción de mezcla = 3:2) para detener la reacción. Tras añadir agua y agitar, es recogida la capa de hexano, y esta capa es evaporada a sequedad. Es añadida una solución de cloroformo (concentración: 10 mg/ml), y la mezcla es colocada en una placa de gel de sílice de capa fina y es desarrollada utilizando una solución mixta de hexano, éter dietílico y acetato de etilo (proporción de mezcla = 85:15:2). La radiactividad de una porción correspondiente al oleato de colesterol es medida utilizando un analizador de imágenes BAS-2500 (fabricado por Fujifilm Corp.). Una muestra
- 15 no complementada con el fármaco de prueba es tratada y ensayada de manera similar. El valor EC₅₀ de la activación de LCAT es calculado de acuerdo con la expresión dada a continuación con relación a la actividad de LCAT en la muestra no suplementada con el fármaco de prueba.

[Expresión 2]

$$Y = \text{Inferior} + \frac{(\text{Superior} - \text{Inferior})}{1 + 10^{\text{Log EC}_{50} - X}}$$

20

en la que X representa el logaritmo de la concentración del fármaco de prueba;

Y representa la respuesta (actividad LCAT) del fármaco de prueba;

La parte superior representa el valor máximo (meseta máxima);

La parte inferior representa el valor mínimo (meseta mínima); y

25

EC₅₀ representa la concentración efectiva del 50%.

(Ejemplo de prueba 3 - Referencia) Medición (ex vivo) de la actividad de LCAT

- Es medida la actividad de LCAT en el plasma de un mono cynomolgus o un ratón transgénico LCAT humano que recibe cada fármaco de prueba. Es añadido [¹⁴C]colesterol que contiene DTNB (reactivo de Ellman, concentración final: 0,26 mM), mercaptoetanol (concentración final: 2 mM), y 0,6% de albúmina de suero bovino a 25 μL de cada plasma para ajustar la cantidad total a 40 μL. Esta mezcla es incubada a 37°C durante 1 hora. Luego, es añadida una solución mixta de hexano e isopropanol (proporción de mezcla = 3:2) para detener la reacción. Tras añadir agua y agitar, es recogida la capa de hexano, y esta capa es evaporada a sequedad. Es añadida una solución de cloroformo (concentración: 10 mg/ml), y la mezcla es colocada en una placa de gel de sílice de capa fina y es desarrollada
- 30 utilizando una solución mixta de hexano, éter dietílico y acetato de etilo (proporción de mezcla = 85:15:2). La radiactividad de una porción correspondiente al oleato de colesterol es medida utilizando un analizador de imágenes BAS-2500 (fabricado por Fujifilm Corp.). Es calculada la tasa de cambio en la activación del LCAT en cada momento en comparación con la actividad del LCAT antes de su administración.
- 35

(Ejemplo de prueba 4 - Referencia) Prueba de eficacia del fármaco en monos cynomolgus

Cada fármaco de prueba fue disuelto en una solución mixta de propilenglicol (Sigma-Aldrich Corp.)-Tween 80 (Sigma-Aldrich Corp.) [4/1 (v/v)] o una solución acuosa de metilcelulosa al 0,5% (p/v), y la solución fue administrada por vía oral a un mono cynomolgus durante 1 o 7 días. En el día 1 o 7 del período de administración, fue recogida sangre antes y después de la administración y fue obtenido plasma. El contenido de colesterol en el plasma fue medido utilizando un kit de ensayo comercialmente disponible (Cholesterol-E Wako, Wako Pure Chemical Industries, Ltd.). El perfil de lipoproteínas fue analizado por HPLC (columna: LipopropakXL, fabricado por Tosoh Corp.). El contenido de colesterol HDL y de colesterol no HDL fue calculado de acuerdo con la siguiente expresión de cálculo:

Contenido de colesterol HDL = Contenido de colesterol en el plasma x (Área de pico de colesterol HDL / Suma total de picos)

Contenido de colesterol no HDL = Contenido de colesterol en el plasma x (Área de pico de colesterol no HDL / Suma total de picos)

La tasa (%) de aumento del nivel de HDL tras la administración de una dosis única de 10 mg/kg en comparación con antes de la administración fue determinada a partir de la AUC antes de la administración y 24 horas después de la misma. Los resultados se muestran en la Tabla 14.

(Tabla 14)

Compuesto de prueba	Tasa de aumento del nivel de HDL tras la administración de dosis única
Compuesto de Ejemplo 1(4)	590
Compuesto de Ejemplo 6(4)	483

(Ejemplo de prueba 5 - Referencia) Prueba de eficacia de fármaco en ratones transgénicos LCAT humanos

Cada fármaco de prueba es disuelto en una solución mixta de propilenglicol-Tween 80 [4/1 (v/v)] o en una solución acuosa de metilcelulosa al 0,5% (p/v), y la solución es administrada por vía oral a un ratón transgénico LCAT humano durante 1, 4 o 7 días. A los 1, 4 o 7 días del período de administración, es recogida sangre antes de la administración y después de la misma, y es obtenido plasma. El contenido de colesterol en el plasma es medido utilizando un kit de ensayo comercialmente disponible (Cholesterol-E Wako, Wako Pure Chemical Industries, Ltd.). El perfil de lipoproteínas es analizado por HPLC (columna: LipopropakXL, fabricado por Tosoh Corp.). El contenido de colesterol HDL y de colesterol no HDL es calculado de acuerdo con la siguiente expresión de cálculo:

Contenido de colesterol HDL = Contenido de colesterol en el plasma x (Área de pico de colesterol HDL / Suma total de picos)

Contenido de colesterol no HDL = Contenido de colesterol en el plasma x (Área de pico de colesterol no HDL / Suma total de picos)

El compuesto de la presente invención exhibe un excelente efecto activador del LCAT y es útil como medicamento para el tratamiento o profilaxis de enfermedades tal como dislipidemia y arteriosclerosis.

(Ejemplo de formulación 1 - Referencia) Cápsula dura

Cada cubierta de cápsula de gelatina dura de dos piezas estándar es llenada con 100 mg del compuesto del Ejemplo 1 en forma de polvo, 150 mg de lactosa, 50 mg de celulosa, y 6 mg de estearato de magnesio para producir una cápsula unitaria, que a su vez es lavada y luego secada.

(Ejemplo de formulación 2 - Referencia) Cápsula blanda

Una mezcla del compuesto del Ejemplo 2 puesta en un aceite digerible, por ejemplo, aceite de soja, aceite de semilla de algodón o aceite de oliva, es preparada e inyectada en una cubierta de gelatina utilizando una bomba de desplazamiento positivo para obtener una cápsula blanda que contiene 100 mg del ingrediente activo, que a su vez es lavada y luego secada.

(Ejemplo de formulación 3 - Referencia) Comprimido

De acuerdo con un procedimiento de rutina, es producido un comprimido utilizando 100 mg del compuesto del Ejemplo 3, 0,2 mg de dióxido de silicio coloidal, 5 mg de estearato de magnesio, 275 mg de celulosa microcristalina, 11 mg de almidón y 98,8 mg de lactosa.

- 5 Si se desea, el comprimido es revestido.

(Ejemplo de formulación 4 - Referencia) Suspensión

Es producida una suspensión que contiene 100 mg del compuesto del Ejemplo 4 pulverizado en un polvo fino, 100 mg de carboximetilcelulosa de sodio, 5 mg de benzoato de sodio, 1,0 g de una solución de sorbitol (Farmacopea Japonesa) y 0,025 ml de vainillina en 5 ml.

10 **(Ejemplo de formulación 5 - Referencia) Inyección**

El compuesto del Ejemplo 6 (1,5% en peso) es agitado en 10% en peso de propilenglicol, después es ajustado a un volumen fijo con agua inyectable y esterilizado para preparar una inyección.

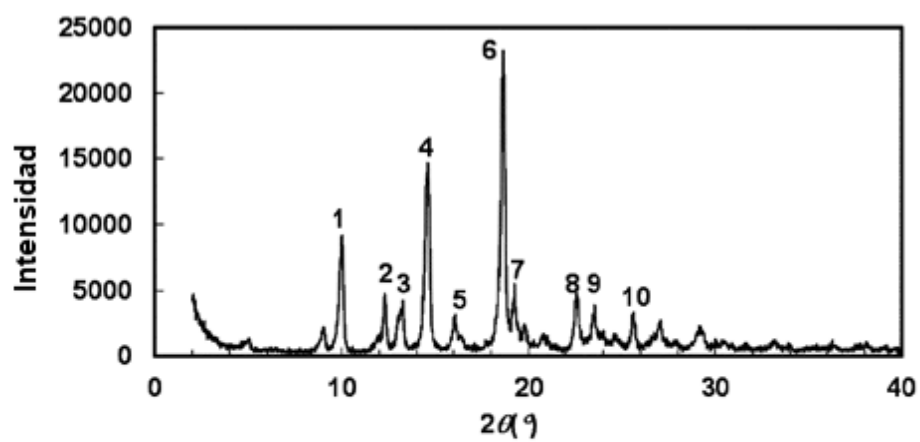
Aplicabilidad industrial

- 15 El compuesto representado por la fórmula general (I) de la presente invención o la sal farmacológicamente aceptable del mismo tiene un excelente efecto activador del LCAT y es particularmente útil como ingrediente activo de un agente terapéutico o profiláctico para arteriosclerosis, cardiopatía arteriosclerótica, cardiopatía coronaria (incluyendo síndromes coronarios agudos, insuficiencia cardíaca, infarto de miocardio, angina de pecho, isquemia cardíaca y trastornos cardiovasculares, y reestenosis causada por angiogénesis), enfermedades cerebrovasculares (incluyendo accidentes cerebrovasculares e infarto cerebral), enfermedades vasculares periféricas (incluyendo enfermedades
- 20 arteriales periféricas y complicaciones vasculares diabéticas), dislipidemia, deficiencia de LCAT, hipercolesterolemia de LDL, hipercolesterolemia de LDL, diabetes mellitus, hipertensión, síndrome metabólico, enfermedad de Alzheimer, opacidad de la córnea, o enfermedades renales, en particular, un agente antiarteriosclerótico.

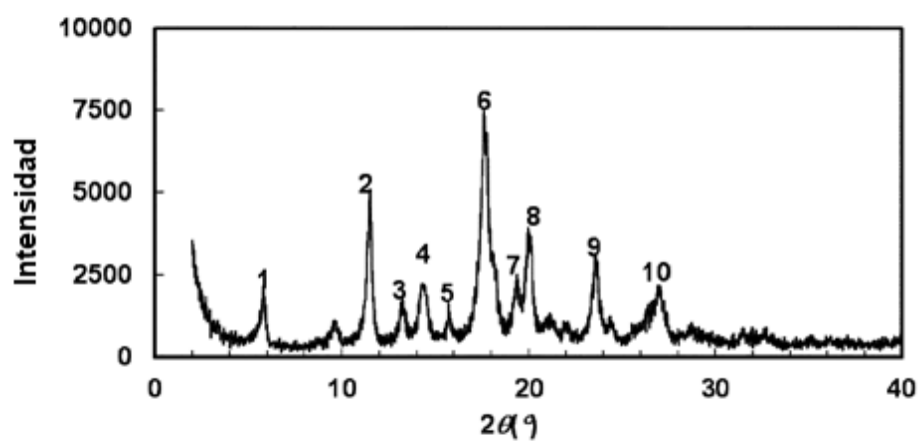
REIVINDICACIONES

1. Un cristal de (+)-cis-5R-hidroxi-4R-(trifluorometil)-3-{1-[2-(trifluorometil)pirimidin-5-Il]piperidin-4-Il}-1,4,5,7-tetrahidro-6H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona que presenta picos principales en espaciados d de 12,00, 8,53, 6,10, 5,42, 4,56, 4,32, 3,83, 3,60, 3,39 y 3,04 angstroms en un patrón de difracción de rayos X en polvo obtenido por exposición a la radiación de cobre K α .
2. Una composición farmacéutica que comprende un cristal de acuerdo con la reivindicación 1 como ingrediente activo.
3. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 2, en la que la composición farmacéutica es para el tratamiento o la profilaxis de arteriosclerosis, cardiopatía arteriosclerótica, cardiopatía coronaria, enfermedad cerebrovascular, enfermedad vascular periférica, dislipidemia, hipercolesterolemia, o enfermedad renal.
4. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 2, en la que la composición farmacéutica es para el tratamiento o profilaxis de arteriosclerosis.
5. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 2, en la que la composición farmacéutica es para el tratamiento o la profilaxis de dislipidemia.
6. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 2, en la que la composición farmacéutica es para el tratamiento o profilaxis de una enfermedad causada por un aumento de la concentración de colesterol LDL en la sangre.
7. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 2, en la que la composición farmacéutica es para el tratamiento o profilaxis de una enfermedad causada por una disminución de la concentración de colesterol HDL en la sangre.
8. El cristal de acuerdo con la reivindicación 1 para uso en un procedimiento de tratamiento o profilaxis de una enfermedad.
9. El cristal para el uso de acuerdo con la reivindicación 8, en la que la enfermedad es arteriosclerosis, cardiopatía arteriosclerótica, cardiopatía coronaria, enfermedad cerebrovascular, enfermedad vascular periférica, dislipidemia, hipocolesterolemia, o enfermedad renal.
10. El cristal para el uso de acuerdo con la reivindicación 8, en el que la enfermedad es arteriosclerosis.
11. El cristal para el uso de acuerdo con la reivindicación 8, en el que la enfermedad es dislipidemia.
12. El cristal para el uso de acuerdo con la reivindicación 8, en el que la enfermedad es una enfermedad causada por un aumento de la concentración de colesterol LDL en la sangre.
13. El cristal para el uso de acuerdo con la reivindicación 8, en el que la enfermedad es una enfermedad causada por una disminución de la concentración de colesterol HDL en la sangre.

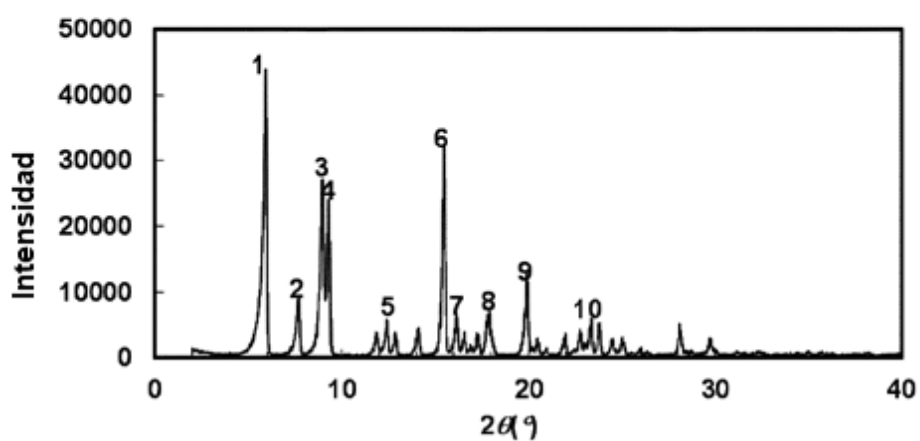
[Figura 1]



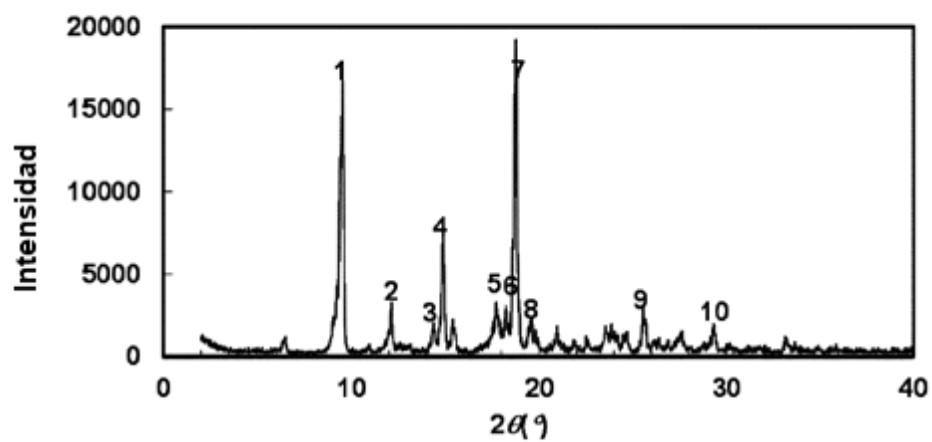
[Figura 2]



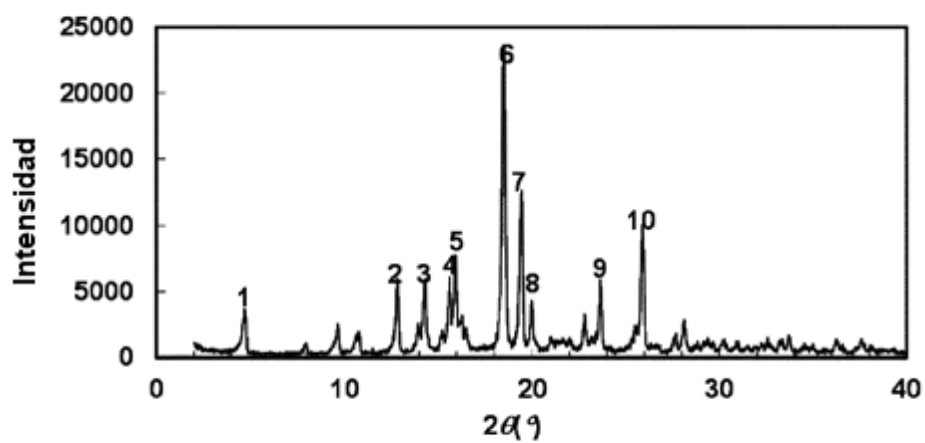
[Figura 3]



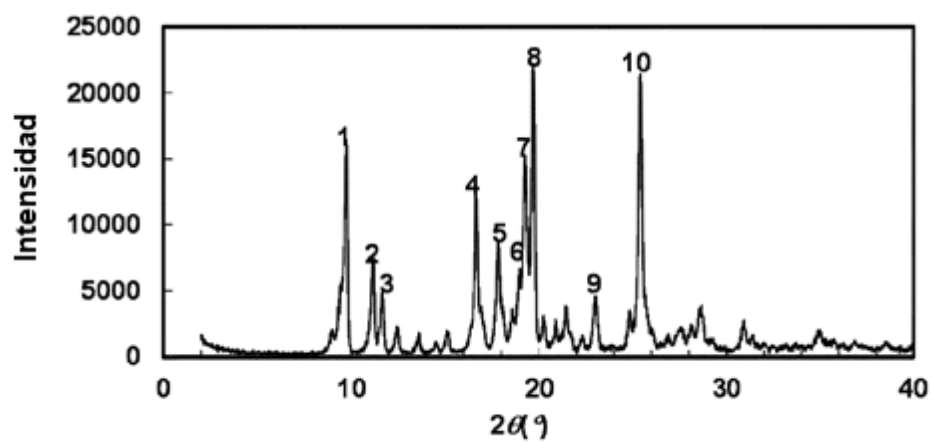
[Figura 4]



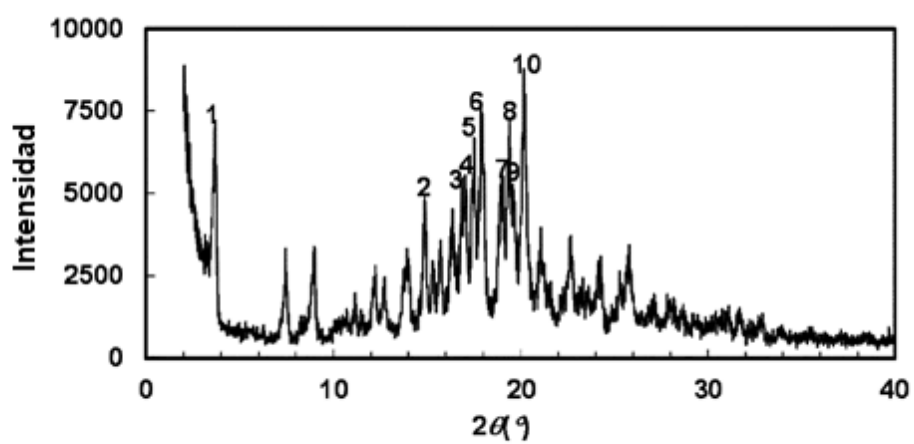
[Figura 5]



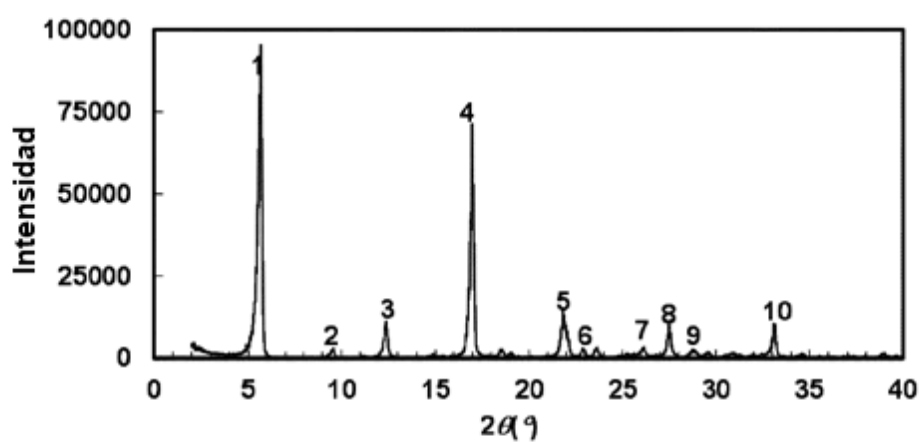
[Figura 6]



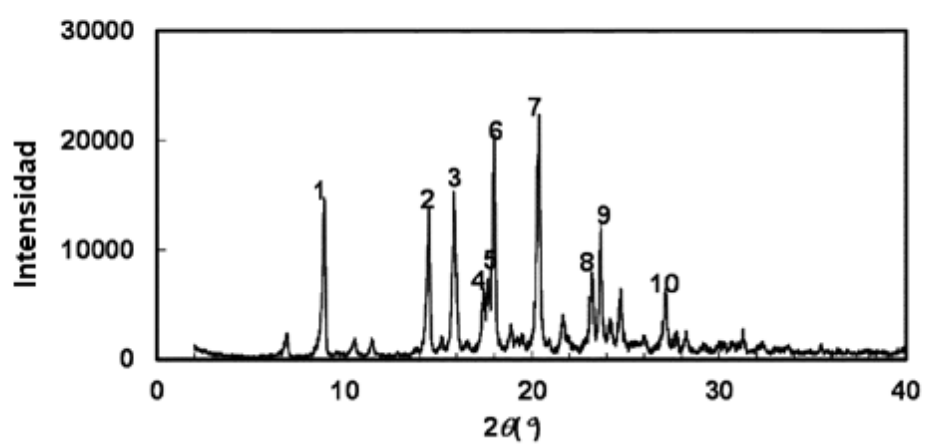
[Figura 7]



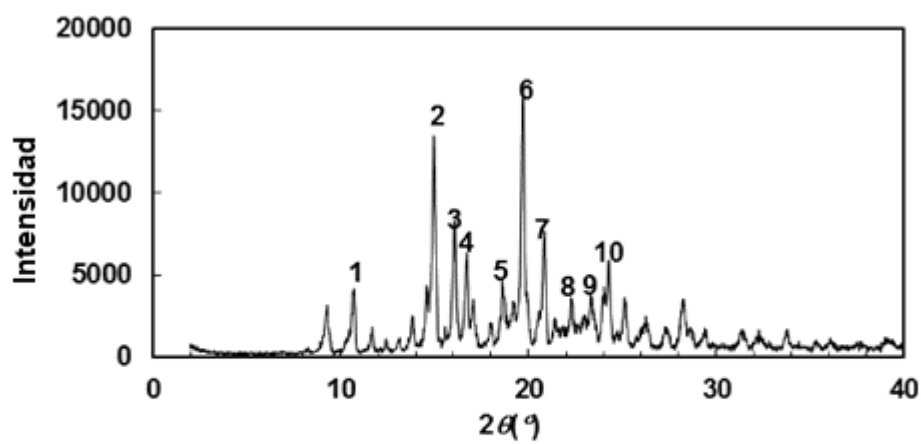
[Figura 8]



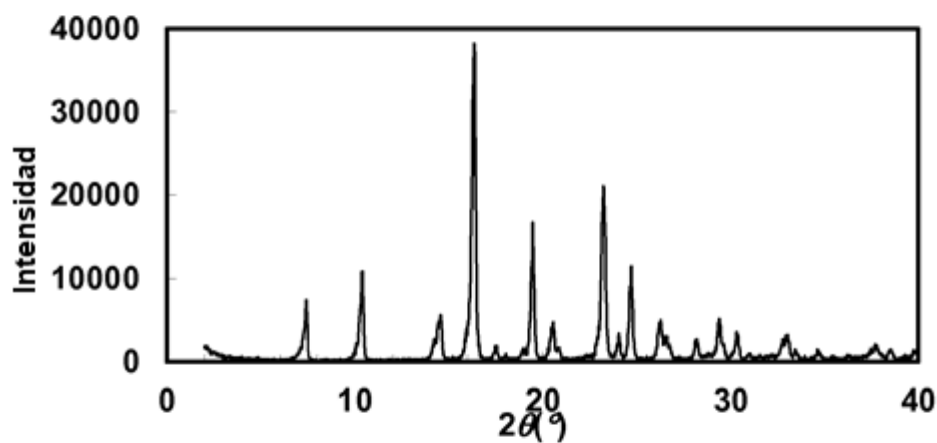
[Figura 9]



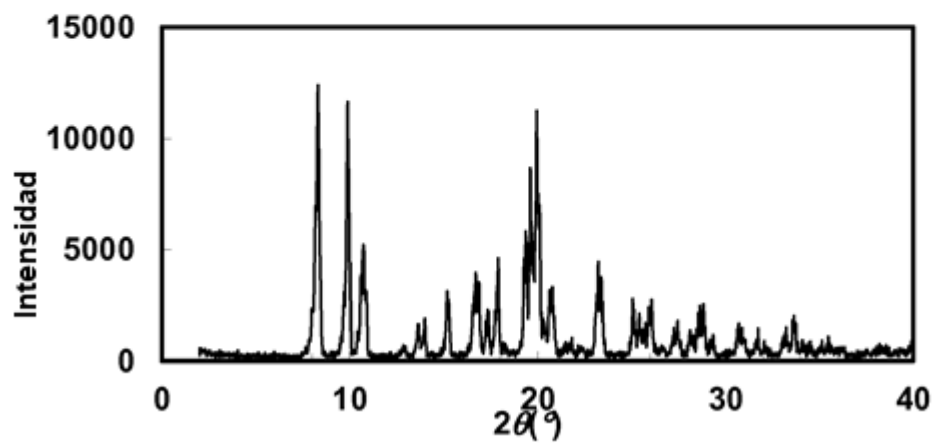
[Figura 10]



[Figura 11]



[Figura 12]



[Figura 13]

