

(19)

OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 267 077**

(51) Int. Cl.:

C07D 403/04 (2006.01)**C07D 495/04** (2006.01)**C07D 491/04** (2006.01)**A61K 31/41** (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(86) Número de solicitud europea: **04818324 .8**(86) Fecha de presentación : **29.10.2004**(87) Número de publicación de la solicitud: **1599469**(87) Fecha de publicación de la solicitud: **30.11.2005**

(54) Título: **Derivados de tetrazol y procedimientos de tratamiento de trastornos relacionados con el metabolismo de los mismos.**

(30) Prioridad: **31.10.2003 US 516238 P**

(73) Titular/es: **Arena Pharmaceuticals, Inc.**
6166 Nancy Ridge Drive
San Diego, California 92121, US
Merck & Co., Inc.

(45) Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.03.2007

(72) Inventor/es: **Simple, Graeme;**
Schrader, Thomas;
Skinner, Philip, J.;
Colletti, Steven, L.;
Gharbaoui, Tawfik;
Imbriglio, Jason E.;
Jung, Jae-Kyu;
Liang, Rui;
Raghavan, Subharekha;
Schmidt, Darby y
Tata, James, R.

(45) Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.03.2007

(74) Agente: **Ponti Sales, Adelaida**

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

DESCRIPCIÓN

Derivados de tetrazol y procedimientos de tratamiento de trastornos relacionados con el metabolismo de los mismos.

5 Campo de la invención

La presente invención se refiere a determinados derivados de tetrazol, y a sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, que muestran propiedades farmacológicas útiles, por ejemplo como agonistas del receptor del ácido nicotínico RUP25. La presente invención también se refiere a composiciones farmacéuticas que contienen uno o más compuestos de la invención, y a procedimientos de utilización de los compuestos y composiciones de la invención en el tratamiento de trastornos relacionados con el metabolismo, incluyendo dislipidemia, aterosclerosis, enfermedad cardíaca coronaria, resistencia a la insulina, diabetes de tipo 2, síndrome X y similares. La presente invención también se refiere a la utilización de los compuestos de la invención en combinación con otros agentes activos, tales como aquéllos que pertenecen a la clase de los inhibidores de la α -glucosidasa, inhibidores de la aldosa reductasa, biguanidas, inhibidores de la HMB-CoA reductasa, inhibidores de la síntesis del escualeno, fibratos, intensificadores del catabolismo de LDL, inhibidores del enzima conversor de la angiotensina (ACE), intensificadores de la secreción de la insulina, tiazolidineodiona y similares.

20 Antecedentes de la invención

Compuestos de la invención como agentes antilipolíticos

La ateroesclerosis y los accidentes cerebrovasculares son las causas número uno y tres de muerte entre hombres y mujeres en los Estados Unidos. La diabetes de tipo 2 es un problema de salud pública que es grave, generalizado y creciente. Los niveles elevados de colesterol-lipoproteína de baja densidad (LDL) o los niveles reducidos de colesterol-lipoproteína de alta densidad (HDL) son, independientemente, factores de riesgo de ateroesclerosis y patologías cardiovasculares asociadas. Además, los niveles elevados de ácidos grasos libres en plasma se asocian a la resistencia a la insulina y a la diabetes de tipo 2. Una estrategia para reducir el colesterol-LDL, incrementar el colesterol-HDL, y reducir los niveles de ácidos grasos libres en plasma es inhibir la lipólisis en el tejido adiposo. Este enfoque implica la regulación de la lipasa sensible a hormonas, que es un enzima limitador de tasa en la lipólisis. Los agentes lipolíticos incrementan los niveles celulares de AMPc, conduciendo a la activación de la lipasa sensible a hormonas en los adipocitos. Los agentes que reducen los niveles intracelulares de AMPc, por el contrario, resultarían antilipolíticos.

También cabe señalar en este contexto que un incremento de los niveles celulares de AMPc regula negativamente la secreción de adiponectina de los adipocitos (Delporte, M.L. *et al.*, Biochem. J., julio de 2002). Los niveles reducidos de adiponectina plasmática se han asociado a trastornos relacionados con el metabolismo, incluyendo la ateroesclerosis, la enfermedad cardíaca coronaria, la resistencia a la insulina y la diabetes de tipo 2 (Matsuda, M. *et al.*, J. Biol. Chem., julio de 2002, y revisiones en la misma).

El ácido nicotínico (niacina, ácido piridina-3-carboxílico) es una vitamina soluble en agua requerida por el cuerpo humano para un estado saludable, el crecimiento y la reproducción; una parte del complejo de la vitamina B. El ácido nicotínico también es uno de los fármacos más antiguos utilizados para el tratamiento de la dislipidemia. Es un fármaco valioso en que afecta favorablemente prácticamente la totalidad de los parámetros lipídicos indicados anteriormente (Pharmacological Basis of Therapeutics, de Goodman y Gilman, editores Harmon, J.G. y Limbird, L.E., capítulo 36, Mahley, R.W. y Bersot, T.P., páginas 971-1002, 2001). Los beneficios del ácido nicotínico en el tratamiento o prevención de la enfermedad cardiovascular aterosclerótica se han documentado en seis ensayos clínicos mayores (Guyton, J.R., Am. J. Cardiol. 82:18U-23U, 1998). El ácido nicotínico y derivados relacionados, tales como el acipimox, se han comentado recientemente (Lorenzen, A. *et al.*, Molecular Pharmacology 59:349-357, 2001). La estructura y síntesis de análogos adicionales o derivados del ácido nicotínico se comentan en todo el índice Merck, An Encyclopedia of Chemicals, Drugs and Biologicals, décima edición, 1983, que se incorpora en la presente memoria como referencia en su totalidad.

El ácido nicotínico inhibe la producción y la liberación de ácidos grasos libres del tejido adiposo, probablemente a través de una inhibición de la adenilil ciclase, una reducción de los niveles intracelulares de AMPc, y una reducción concomitante de la actividad de la lipasa sensible a hormonas. Los agonistas que regulan negativamente la actividad de la lipasa sensible a hormonas que conducen a una reducción de los niveles plasmáticos de ácidos grasos libres es probable que presenten un valor terapéutico. La consecuencia de reducir los ácidos grasos libres en plasma es doble. En primer lugar, en última instancia reducirá los niveles de colesterol-LDL y elevará los del colesterol-HDL, factores de riesgo independientes, reduciendo de esta manera el riesgo de mortalidad debido a la incidencia cardiovascular secundaria a la formación de ateroma. En segundo lugar, proporcionará un incremento de la sensibilidad a la insulina en individuos con resistencia a la insulina o diabetes de tipo 2. Por desgracia, la utilización de ácido nicotínico como compuesto terapéutico se encuentra limitada en parte por varios efectos secundarios adversos asociados. Entre estos se incluyen el enrojecimiento, el rebote de los niveles de ácidos grasos libres y la toxicidad hepática.

El desarrollo racional de nuevos agonistas de los receptores del ácido nicotínico que presentan menos efectos secundarios resultará valioso, pero hasta el momento se ha visto dificultado por la incapacidad para identificar molecularmente el receptor del ácido nicotínico. Además, pueden existir otros receptores de la misma clase sobre la

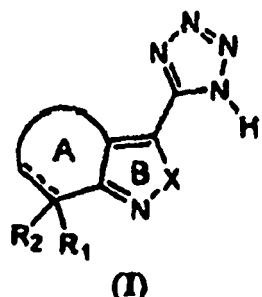
superficie de los adipocitos y reducir de manera similar la actividad de la lipasa sensible a hormonas a través de una reducción del nivel de AMPc intracelular pero sin la inducción de efectos adversos, tales como enrojecimiento, representando de esta manera nuevas y prometedoras dianas terapéuticas. El trabajo reciente sugiere que el ácido nicotínico probablemente actúa a través de un GPCR específico (Lorenzen, A. et al., Molecular Pharmacology 59:349-357, 2001 y revisión en la misma). Trabajos adicionales han sugerido que los efectos del ácido nicotínico sobre los macrófagos, bazo y probablemente los adipocitos se encuentran mediados a través de este CPCR específico (Lorenzen et al., Biochemical Pharmacology 64:645-648, 2002, y revisión en la misma).

Resumen de la invención

10

Un aspecto de la presente invención abarca los derivados de tetrazol, tales como los mostrados en la Fórmula (I):

15



20

25

en la que:

30

X es NH u O;

35

R₁ se selecciona de entre el grupo que consiste en H, halógeno, hidroxi, tioxi, ciano, nitro, haloalquilo C₁₋₄, alquilamino C₁₋₄, dialquilamino C₂₋₈, alquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₄, alquenilo C₂₋₄, alquinilo C₂₋₄, cicloalquilo C₃₋₅, haloalcoxi, alquilitio C₁₋₄, alquilsulfínilo C₁₋₄, alquilsulfonilo C₁₋₄, haloalquilitio C₁₋₄, haloalquilsulfínilo C₁₋₄ y haloalquilsulfonilo C₁₋₄;

40

R₂ se selecciona de entre el grupo que consiste en H, halógeno, hidroxi, tioxi, ciano, nitro, haloalquilo C₁₋₄, amino, alquilamino C₁₋₄, dialquilamino C₂₋₈, alquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₄, alquenilo C₂₋₄, alquinilo C₂₋₄, cicloalquilo C₃₋₅, haloalcoxi C₁₋₄, alquilitio C₁₋₄, alquilsulfínilo C₁₋₄, alquilsulfonilo C₁₋₄, haloalquilitio C₁₋₄, haloalquilsulfínilo C₁₋₄, y haloalquilsulfonilo C₁₋₄; o R₂ se encuentra ausente;

45

— es un enlace sencillo cuando R₂ se encuentra presente, o — es un enlace doble cuando R₂ se encuentra ausente; y el anillo A es un anillo carbocíclico de 5 elementos o un anillo heterocíclico de 5 elementos opcionalmente sustituido por 1 a 4 sustituyentes seleccionados de entre el grupo que consiste en halógeno, hidroxi, tioxi, ciano, nitro, haloalquilo C₁₋₄, amino, alquilamino C₁₋₄, dialquilamino C₂₋₈, alquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₄, alquenilo C₂₋₄, alquinilo C₂₋₄, cicloalquilo C₃₋₅, haloalcoxi C₁₋₄, alquilitio C₁₋₄, alquilsulfínilo C₁₋₄, alquilsulfonilo C₁₋₄, haloalquilitio C₁₋₄, haloalquilsulfínilo C₁₋₄, y haloalquilsulfonilo C₁₋₄; o

una sal, solvato o hidrato farmacéuticamente aceptable de los mismos.

50

Un aspecto de la presente invención abarca las composiciones farmacéuticas que comprenden por lo menos un compuesto según la Fórmula (I), tal como se describe en la presente memoria.

55

En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende además uno o más agentes seleccionados de entre el grupo que consiste en inhibidor de α -glucosidasa, inhibidor de aldosa reductasa, biguanida, inhibidor de HMG-CoA reductasa, inhibidor de la síntesis de escualeno, fibrato, intensificador del catabolismo de LDL, inhibidor del enzima conversor de angiotensina, intensificador de la secreción de insulina y tiazolidinadiona.

60

También se describen en la presente memoria procedimientos de tratamiento de un trastorno relacionado con el metabolismo que comprende administrar a un individuo que necesita dicho tratamiento una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de acuerdo con la Fórmula (I), tal como se describe en la presente memoria, o una composición farmacéutica del mismo.

65

También se describen en la presente memoria procedimientos para modular un receptor RUP25 que comprende poner en contacto el receptor con un compuesto de acuerdo con la Fórmula (I), tal como se describe en la presente memoria.

ES 2 267 077 T3

También se describen en la presente memoria procedimientos para modular un receptor RUP25 para el tratamiento de un trastorno relacionado con el metabolismo en un individuo que necesita dicha modulación, comprendiendo poner en contacto dicho receptor con una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de acuerdo con la Fórmula (I), tal como se describe en la presente memoria.

5 También se describen en la presente memoria procedimientos de desarrollo de HDL en un individuo, comprendiendo la administración al individuo de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de acuerdo con la Fórmula (I), tal como se describe en la presente memoria.

10 Un aspecto de la presente invención se refiere a un compuesto de Fórmula (I), tal como se describe en la presente memoria, para la utilización en un procedimiento de tratamiento del cuerpo humano o animal mediante terapia.

15 Un aspecto de la presente invención se refiere a un compuesto de Fórmula (I), tal como se describe en la presente memoria, para la utilización en un procedimiento de tratamiento de un trastorno relacionado con el metabolismo del cuerpo humano o animal mediante terapia.

20 Un aspecto de la presente invención se refiere a la utilización de compuestos de Fórmula (I), tal como se describe en la presente memoria, para la preparación de un medicamento para la utilización en el tratamiento de un trastorno relacionado con el metabolismo.

25 En algunas formas de realización de la presente invención, el trastorno relacionado con el metabolismo es del grupo que consiste en dislipidemia, ateroesclerosis, enfermedad cardíaca coronaria, resistencia a la insulina, obesidad, tolerancia alterada a la glucosa, enfermedad ateromatosa, hipertensión, accidente cerebrovascular, síndrome X, enfermedad cardíaca y diabetes de tipo 2. En algunas realizaciones, el trastorno relacionado con el metabolismo es la dislipidemia, enfermedad cardíaca coronaria, resistencia a la insulina y diabetes de tipo 2. En algunas realizaciones, el trastorno relacionado con el metabolismo es la dislipidemia. En algunas realizaciones, el trastorno relacionado con el metabolismo es la ateroesclerosis. En algunas realizaciones, el trastorno relacionado con el metabolismo es una enfermedad cardíaca coronaria. En algunas realizaciones, el trastorno relacionado con el metabolismo es la resistencia a la insulina. En algunas realizaciones, el trastorno relacionado con el metabolismo es la diabetes de tipo 2.

30 30 Un aspecto de la presente invención abarca un procedimiento de producción de una composición farmacéutica, comprendiendo mezclar por lo menos un compuesto de acuerdo con la Fórmula (I), tal como se describe en la presente memoria, y un portador o excipiente farmacéuticamente aceptable.

35 Este y otros aspectos de la invención dados a conocer en la presente memoria se describirán en más detalle posteriormente en la exposición de la patente.

Descripción detallada de la invención

40 La literatura científica ha adoptado varios términos; por consistencia y claridad, se utilizan las definiciones siguientes a lo largo del presente documento de patente.

45 El término “agonistas” se refiere a grupos que interaccionan y activan el receptor, tales como el receptor RUP25, y que inician una respuesta fisiológica o farmacológica característica de dicho receptor. Por ejemplo, cuando los grupos activan la respuesta intracelular al unirse al receptor, o potencian la unión de GTP a las membranas.

En la Tabla 1 se indican las abreviaturas de aminoácidos utilizadas en la presente memoria:

TABLA 1

Alanina	ALA	A
Arginina	ARG	R
Asparagina	ASN	N
Ácido Aspártico	ASP	D
Cisteína	CYS	C
Ácido Glutámico	GLU	E
Glutamina	GLN	Q
Glicina	GLY	G

ES 2 267 077 T3

TABLA 1 (continuación)

5	Histidina	HIS	H
	Isoleucina	ILE	I
	Leucina	LEU	L
10	Lisina	LYS	K
	Metionina	MET	M
	Fenilalanina	PHE	F
15	Prolina	PRO	P
	Serina	SER	S
20	Treonina	THR	T
	Triptófano	TRP	W
	Tirosina	TYR	Y
25	Valina	VAL	V

30 El término "antagonistas" pretende referirse a grupos que se unen competitivamente al receptor en el mismo sitio que los agonistas (por ejemplo el ligando endógeno), pero que no activan la respuesta intracelular iniciada por la forma activa del receptor, y pueden de esta manera inhibir las respuestas intracelulares por parte de agonistas o agonistas parciales. Los antagonistas no reducen la respuesta intracelular de línea base en ausencia de un agonista o agonista parcial.

35 El término "ateroesclerosis" pretende abarcar en la presente invención los trastornos de arterias de tamaño grande e intermedio que resultan en la acumulación progresiva dentro de la capa íntima de las células musculares lisas de lípidos.

40 *Grupo, parte o radical químico*

45 El término "acilo C₁₋₄" se refiere a un radical alquilo C₁₋₄ unido a un carbonilo, en el que la definición de alquilo presenta la misma definición que la proporcionada en la presente memoria; entre algunos ejemplos se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, acetilo, propionilo, n-butanoilo, iso-butanoilo, sec-butanoilo, t-butanoilo (es decir, pivaloilo), petanoilo y similares.

50 El término "aciloxi C₁₋₄" se refiere a un radical acilo unido a un átomo de oxígeno, en el que el acilo presenta la misma definición que se ha indicado en la presente memoria; entre algunos ejemplos se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, acetiloxi, propioniloxi, butanoiloxi, isobutanoiloxi, sec-butanoiloxi, t-butanoiloxi y similares.

55 El término "alquenilo C₂₋₄" se refiere a un radical que contiene 2 a 4 carbonos, en el que se encuentra presente por lo menos un doble enlace carbono-carbono, algunas realizaciones son de 2 a 3 carbonos, y algunas realizaciones presentan 2 carbonos. El término "alquenilo" abraza tanto el isómero E como el Z. Además, el término "alquenilo" incluye los dienos. Por consiguiente, si se encuentra presente más de un doble enlace, los enlaces pueden ser todos E o Z o una mezcla de E y Z. Entre los ejemplos de un alquenilo se incluyen vinilo, propenilo, alilo, isopropenilo, 2-metil-propenil-metil-propenilo, but-1-enilo, but-2-enilo, but-3-enilo, buta-1,3-dienilo y similares.

60 El término "alcoxi C₁₋₄" se refiere a un radical alquilo, tal como se define en la presente memoria, unido directamente a un átomo de oxígeno. Entre los ejemplos se incluyen metoxi, etoxi, n-propoxi, isopropoxi, n-butoxi, t-butoxi, isobutoxi, sec-butoxi y similares.

65 El término "alquilo C₁₋₄" se refiere a un radical de carbonos lineal o ramificado que contiene el número de carbonos que se indica, por ejemplo en algunas realizaciones alquilo es un "alquilo C₁₋₄" y el grupo contiene 1 a 4 carbonos. En algunas realizaciones alquilo contiene 1 a 13 carbonos, alguna realizaciones contienen 1 a 2 carbonos, algunas realizaciones contienen 1 carbono. Entre los ejemplos de alquilo se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo, t-butilo, sec-butilo y similares.

ES 2 267 077 T3

El término “alquilsulfinilo C₁₋₄” se refiere a un radical alquilo C₁₋₄ unido a un radical sulfóxido de la fórmula: -S(O)-, en el que el radical alquilo presenta la misma definición que se indica en la presente memoria. Entre los ejemplos se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, metilsulfinilo, etilsulfinilo, n-propilsulfinilo, isopropilsulfinilo, n-butilsulfinilo, sec-butilsulfinilo, isobutilsulfinilo, t-butilo y similares.

5 El término “alquilsulfonilo C₁₋₄” se refiere a un radical alquilo C₁₋₄ unido a un radical sulfona de fórmula -S(O)₂- en el que el radical alquilo presenta la misma definición que la proporcionada en la presente memoria. Entre los ejemplos se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, metilsulfonilo, etilsulfonilo, n-propilsulfonilo, isopropilsulfonilo, n-butilsulfonilo, sec-butilsulfonilo, isobutilsulfonilo, t-butilsulfonilo y similares.

10 El término “alquiltio C₁₋₄” se refiere a un radical alquilo C₁₋₄ unido a un grupo sulfuro de fórmula -S-, en el que el radical alquilo presenta la misma definición que la proporcionada en la presente invención. Entre los ejemplos se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, metilsulfanilo (es decir, CH₃S-), etilsulfanilo, n-propilsulfanilo, isopropilsulfanilo, n-butilsulfanilo, n-butilsulfanilo, sec-butilsulfanilo, isobutilsulfanilo, t-butilo y similares.

15 15 El término “alquinilo C₂₋₄” se refiere a un radical que contiene 2 a 4 carbonos y por lo menos un enlace triple carbono-carbono, algunas realizaciones son de 2 a 3 carbonos, y algunas realizaciones presentan 2 carbonos. Entre los ejemplos de un alquinilo se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, etínilo, prop-1-inilo, 3-prop-2-inilo, but-1-inilo, 1-metil-prop-2-inilo, buta-1,3-diinilo, y siilares. El término “alquinilo” incluye los di-inos.

20 20 El término “amino” se refiere al grupo -NH₂.

25 El término “alquilamino C₁₋₄” se refiere a un radical alquilo unido a un radical amino, en el que el radical alquilo presenta el mismo significado que el indicado en la presente memoria. Entre algunos ejemplos se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, metilamino, etilamino, n-propilamino, isopropilamino, n-butilamino, sec-butilamino, isobutilamino, t-butilamino, y similares. Algunas realizaciones son “alquilamino C₁₋₂”.

30 El término “arilo” se refiere a radical anillo aromático que contiene 6 a 10 carbonos anulares. Entre los ejemplos se incluyen fenilo y naftilo.

35 El término “carboalcoxi C₁₋₄” se refiere a un alquiléster C₁₋₄ de un ácido carboxílico, en el que el grupo alquilo es tal como se ha indicado en la presente memoria. Entre los ejemplos se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, carbo-metoxi, carboetoxi, carbopropoxi, carboisopropoxi, carbobutoxi, carbo-sec-butoxi, carbo-isobutoxi, carbo-t-butoxi y similares.

40 35 El término “carboxamida” se refiere al grupo -CONH₂.

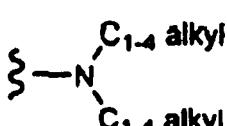
El término “carboxi” o “carboxilo” se refiere al grupo -CO₂H; también denominado grupo ácido carboxílico.

45 40 El término “ciano” se refiere al grupo -CN.

El término “cicloalquilo C₃₋₅” se refiere a un radical anillo saturado que contiene 3 a 6 carbonos; algunas realizaciones contienen 3 a 5 carbonos; algunas realizaciones contienen 3 a 4 carbonos. Entre los ejemplos se incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo.

50 45 El término “dialquilamino C₂₋₈” se refiere a un amino sustituido con dos radicales alquilo iguales o diferentes, en el que el radical alquilo presenta la misma definición que la proporcionada en la presente memoria. Un dialquilamino C₂₋₈ puede representarse mediante los grupos siguientes:

55



Entre los ejemplos de dialquilamino C₂₋₈ se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, dimetilamino, metiletilamino, dietilamino, metilpropilamino, metilisopropilamino y similares.

60 60 El término “haloalcoxi C₁₋₄” se refiere a un haloalquilo, tal como se define en la presente memoria, que se encuentra unido directamente a un átomo de oxígeno. Entre los ejemplos se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, difluorometoxi, trifluorometoxi, 2,2,2-trifluoroetoxi, pentafluoroetoxi y similares.

65 65 El término “haloalquilo C₁₋₄” se refiere a un grupo alquilo en el que el alquilo se sustituye con halógeno, desde uno a encontrarse completamente sustituido, en el que un haloalquilo completamente sustituido puede representarse mediante la fórmula ChL2h+1, en la que L es un halógeno y “h” representa el número de átomos de carbono; cuando se encuentra presente más de un halógeno, los halógenos pueden ser iguales o diferentes y seleccionarse de entre el

ES 2 267 077 T3

grupo que consiste en F, Cl, Br e I; se entiende que los términos “alquilo” y “halógeno” presentan la misma definición que la proporcionada en la presente memoria. En algunas realizaciones, haloalquilo es un “haloalquilo C₁₋₄” y el grupo contiene 1 a 4 carbonos, algunas realizaciones contiene 1 a 3 carbonos, algunas realizaciones contienen 1 a 2 carbonos, algunas realizaciones contienen 1 carbono. Cuando el haloalquilo se encuentra completamente sustituido con átomos

- 5 de halógeno, este grupo se denomina en la presente memoria perhaloalquilo, un ejemplo es un alquilo completamente sustituido con átomos de flúor y se denomina en la presente memoria “perfluoroalquilo”. En algunas realizaciones, entre los ejemplos de haloalquilo se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, difluorometilo, fluorometilo, 2,2,2-trifluoroetilo, 2,2-difluoroetilo, 2-fluoroetilo, 1,2,2-trifluoroetilo, 1,2-difluoroetilo, 1,1-difluoroetilo, 1,1,2-trifluoroetilo, 3,3,3-trifluoropropilo, 2,2-difluoropropilo, 3,3-difluoropropilo, 3-fluoropropilo, 2,3,3-trifluoropropilo, 2,3-difluoropropilo, 10 2,2,3,3,3-pentafluoropropilo, 2,2,3,3-tetrafluoropropilo, 2,2,3-trifluoropropilo, 1,2,3,3-tetrafluoropropilo, 1,2,3-trifluoropropilo, 3,3-difluoropropilo, 1,2,2,3-tetrafluoropropilo, 4,4-difluorobutilo, 3,3-difluorobutilo, 4,4,4-trifluorobutilo, 3,3-difluorobutilo, 4,4,4-trifluorobutilo, 3,3-difluorobutilo y similares. En algunas realizaciones, entre los ejemplos de perfluoroalquilo se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, trifluorometilo, pentafluoroetilo, heptafluoropropilo, 1,2,2,2-tetrafluoro-1-trifluorometil-etilo y similares.

15 El término “haloalquilsulfinilo C₁₋₄” se refiere a un radical haloalquilo unido a un grupo sulfóxido de fórmula: -S(O)-, en el que el radical haloalquilo presenta la misma definición que la proporcionada en la presente memoria.

20 El término “haloalquiltio C₁₋₄” se refiere a un radical haloalquilo unido a un grupo sulfona de fórmula: -S(O)₂- en el que el radical haloalquilo presenta la misma definición que la proporcionada en la presente memoria.

El término “haloalquiltio C₁₋₄” se refiere a un radical haloalquilo unido directamente a un átomo de azufre, en el que el haloalquilo presenta el mismo significado que el indicado en la presente memoria.

25 El término “halógeno” o “halo” se refiere a un grupo fluoro, cloro, bromo o yodo.

El término “hidroxilo” se refiere al grupo -OH.

El término “nitro” se refiere al grupo -NO₂.

30 El término “tioxi” se refiere al grupo -SH.

El acrónimo DMF se refiere a dimetilformamida.

35 El acrónimo DMSO se refiere a dimetilsulfóxido.

El acrónimo THF se refiere a tetrahidrofurano.

40 El acrónimo DCM se refiere a diclorometano.

El acrónimo Hex se refiere a hexanos.

El acrónimo TBDMS se refiere a terc-butildimetsilsililo.

45 El acrónimo PTSA se refiere al ácido para-toluenosulfónico.

El acrónimo LDA se refiere a diisopropilamida litio.

50 El acrónimo LHMDS se refiere a hexametildisilazano litio.

El acrónimo TFA se refiere al ácido trifluoroacético.

El acrónimo EDC se refiere al hidrocloruro de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida.

55 El acrónimo dppf se refiere a 1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno.

El término “codón” significa un agrupamiento de tres nucleótidos (o equivalentes de nucleótidos) que generalmente comprende un nucleósido (adenosina (A), guanosina (G), citidina (C), uridina (U) y timidina (T)) acoplado a un grupo fosfato y que, cuando se traduce, codifica un aminoácido.

60 El término “composición” significa un material que comprende por lo menos dos compuestos o dos componentes, por ejemplo y sin limitación, una Composición Farmacéutica es una Composición que comprende un compuesto de la presente invención y un portador farmacéuticamente aceptable.

65 La expresión “eficacia del compuesto” significa una medición de la capacidad de un compuesto de inhibir o de estimular la funcionalidad de un receptor, diferenciado de la afinidad de unión de un receptor.

ES 2 267 077 T3

La expresión “receptor constitutivamente activado” significa un receptor sometido a la activación constitutiva de receptores.

5 La expresión “activación constitutiva del receptor” significa la estabilización de un receptor en el estado activo por medios diferentes de la unión del receptor con su ligando endógeno o un equivalente químico del mismo.

10 Los términos “contacto” o “puesta en contacto” significan reunir las partes indicadas, sea en un sistema *in vitro* o en un sistema *in vivo*. De esta manera, “la puesta en contacto” de un receptor RUP25 con un compuesto de la invención incluye la administración de un compuesto de la presente invención a un individuo, por ejemplo un ser humano, con un receptor RUP25, así como, por ejemplo, introducir un compuesto de la invención en una muestra que contiene una preparación celular o más purificada que contiene un receptor RUP25.

15 La expresión “enfermedad cardíaca coronaria” pretende abarcar en la presente memoria los trastornos que comprenden un estrechamiento de los vasos sanguíneos pequeños que suministran sangre y oxígeno al corazón. La enfermedad cardíaca coronaria habitualmente resulta de la acumulación de material lipídico y placa. A medida que las arterias coronarias se estrechan, el flujo de sangre hacia el corazón puede enlentecerse o detenerse. La enfermedad cardíaca coronaria puede provocar dolor torácico (angina estable), falta de aliento, ataque cardíaco u otros síntomas.

20 La expresión “decrecer” se utiliza para referirse a una reducción de la cantidad mensurable y se utiliza sinónimamente con los términos “reducir”, “disminuir”, “bajar” y “atenuar”.

25 El término “diabetes” tal como se utiliza en la presente memoria pretende abarcar el diagnóstico habitual de diabetes realizado a partir de cualquiera de los procedimientos, incluyendo, aunque sin limitarse a ellos, la lista siguiente: síntomas de diabetes (por ejemplo poliuria, polidipsia, polifagia) más niveles casuales de glucosa plasmática superiores o iguales a 200 mg/dl, en los que la glucosa plasmática casual se define en cualquier momento del día con independencia del momento de la ingestión de comida o bebida; los niveles de glucosa plasmática de 8 horas de ayuno inferior o iguales a 126 mg/dl, y los niveles de glucosa plasmática superiores o iguales a 200 mg/dl 2 horas después de la administración oral de 75 g de glucosa anhidra disuelta en agua.

30 La expresión “trastornos del metabolismo de los lípidos” pretende en la presente memoria incluir, aunque sin limitarse a ella, la dislipidemia.

35 El término “dislipidemia” pretende en la presente memoria abarcar los trastornos que comprende cualquiera de entre nivel elevado de ácidos grasos libres en plasma, nivel elevado de colesterol en plasma, nivel elevado de colesterol-LDL, nivel reducido de colesterol-HDL y nivel elevado de triglicéridos en plasma.

40 La expresión “que necesita tratamiento”, tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a una evaluación realizada por un cuidador (por ejemplo un médico, enfermero, enfermero practicante, etc.) en el caso del ser humano, un veterinario en el caso de un animal, incluyendo los mamíferos no humanos) de que un individuo o un animal requiere o se beneficiará del tratamiento. Esta evaluación se realiza basándose en una diversidad de factores que se encuentran dentro de los conocimientos del cuidador, que incluye el conocimiento de que el individuo se encuentra enfermo, o se encontrará enfermo, como resultado de una enfermedad, condición o trastorno que resulta tratable con los compuestos de la invención. Además, la expresión “que necesita tratamiento” también se refiere a la “profilaxis” de un individuo, es decir, la evaluación del cuidador de que enfermará el individuo. En este contexto, los compuestos 45 de la invención se utilizan de una manera protectora o preventiva. Por consiguiente, “que necesita tratamiento” se refiere a la evaluación del cuidador de que el individuo ya se encuentra enfermo o de que se encontrará enfermo y de que los compuestos de la presente invención pueden utilizarse para aliviar, inhibir, mejorar o prevenir la enfermedad, condición o trastorno.

50 El término “individuo” tal como se utiliza en la presente memoria se refiere a cualquier animal, incluyendo mamíferos, por ejemplo ratones, ratas, otros roedores, conejos, perros, gatos, cerdos, vacas, ovejas, caballos o primates, y en una realización, seres humanos.

55 Los términos “inhibir” o “inhibidor”, en relación al término “respuesta” significan que una respuesta se reduce o se previene en presencia de un compuesto, en comparación con la ausencia del compuesto.

60 La expresión “resistencia a la insulina” tal como se utiliza en la presente memoria pretende abarcar el diagnóstico habitual de resistencia a la insulina realizado por cualquiera de entre varios procedimientos, incluyendo, aunque sin limitarse a ellos: el ensayo de tolerancia a la glucosa intravenosa o la medición del nivel de insulina en ayuno. Es bien conocido que existe una excelente correlación entre la altura del nivel de insulina en ayuno y el grado de resistencia a la insulina. Por lo tanto, podría utilizarse los niveles de insulina en ayuno como marcador sustituto para la resistencia a la insulina con el fin de identificar que individuos con tolerancia normal a la glucosa (NGT) presentan resistencia a la insulina. También puede realizarse un diagnóstico de resistencia a la insulina utilizando el ensayo de abrazadera de glucosa euglucémica.

65 La expresión “agonistas inversos” se refiere a grupos que se unen a la forma endógena del receptor o a la forma constitutivamente activada del receptor, y que inhiben la respuesta intracelular de línea base iniciada por la forma activa del receptor por debajo del nivel base normal de actividad que se observa en ausencia de agonistas o de antagonistas

parciales, o reduce la unión de GTP a las membranas. En algunas realizaciones, la respuesta intracelular de línea base resulta inhibida en presencia del agonista inverso en por lo menos el 30%, en otras realización, en por lo menos el 50%, y en todavía otra realizaciones, en por lo menos el 75%, en comparación con la respuesta de línea base en ausencia del agonista inverso.

5

El término "ligando" se refiere a una molécula natural endógena específica de un receptor endógeno de origen natural.

La expresión "trastornos relacionados con el metabolismo" pretende incluir en la presente memoria, aunque sin limitarse a ellos, dislipidemia, ateroesclerosis, enfermedad cardíaca coronaria, resistencia a la insulina, obesidad, alteración de la tolerancia a la glucosa, enfermedad ateromatosa, hipertensión, accidente cerebrovascular, síndrome X, enfermedad cardíaca y diabetes de tipo 2.

Tal como se utiliza en la presente memoria, los términos "modular" o "que modula" se refieren a un incremento o a una reducción de la cantidad, calidad, respuesta o efecto de una actividad, función o molécula particulares.

La expresión "composición farmacéutica" se refiere a una composición para prevenir, tratar o controlar un estado o condición de enfermedad, que comprende por lo menos un compuesto activo, por ejemplo un compuesto de la presente invención, incluyendo sales farmacéuticamente aceptables, solvatos y/o hidratos farmacéuticamente aceptables del mismo, y por lo menos un portador farmacéuticamente aceptable.

La expresión "portador o excipiente farmacéuticamente aceptable" se refiere a cualquier sustancia sustancialmente inerte utilizada como diluyente o vehículo para un compuesto de la presente invención.

25 La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" tal como se utiliza en la presente memoria se refiere a la cantidad de compuesto activo o agente farmacéutico que induce la respuesta biológica o medicinal en un tejido, sistema, animal, individuo o ser humano, que busca el investigador, veterinario, doctor médico u otro profesional sanitario, que incluye uno o más de entre los siguientes:

30 (1) prevenir la enfermedad; por ejemplo prevenir una enfermedad, condición o trastorno en un individuo que puede estar predispuesto a la enfermedad, condición o trastorno pero que todavía no experimenta o manifiesta la patología o sintomatología de la misma,

35 (2) inhibir la enfermedad, por ejemplo inhibir una enfermedad, condición o trastorno en un individuo que experimenta o manifiesta la patología o sintomatología de la enfermedad, condición o trastorno (es decir, deteniendo el desarrollo ulterior de la patología y/o sintomatología), y

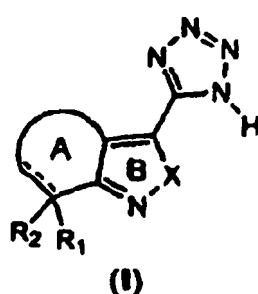
40 (3) mejorar la enfermedad, por ejemplo mejorar una enfermedad, condición o trastorno en un individuo que está experimentando o manifestando la patología o la sintomatología de la enfermedad, condición o trastorno (es decir, hacer remitir la patología y/o la sintomatología).

Compuestos de la invención

Un aspecto de la presente invención abarca los derivados de tetrazol tal como se muestran en la Fórmula (I):

45

50



55

en la que:

60

X es NH u O;

R₁ se selecciona de entre el grupo que consiste en H, halógeno, hidroxi, tioxi, ciano, nitro, haloalquilo C₁₋₄, amino, alquilamino C₁₋₄, dialquilamino C₂₋₈, alquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₄, alquenilo C₂₋₄, alquinilo C₂₋₄, cicloalquilo C₃₋₅, haloalcoxi C₁₋₄, alquiltio C₁₋₄, alquilsulfínilo C₁₋₄, alquilsulfonilo C₁₋₄, haloalquiltio C₁₋₄, haloalquilsulfínilo C₁₋₄, y haloalquilsulfonilo C₁₋₄;

⁵ R₂ se selecciona de entre el grupo que consiste en H, halógeno, hidroxi, tioxi, ciano, nitro, haloalquilo C₁₋₄, amino, alquilamino C₁₋₄, dialquilamino C₂₋₈, aluquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₄, alquenilo C₂₋₄, alquinilo C₂₋₄, cicloalquilo C₃₋₅, haloalcoxi C₁₋₄, alquiltio C₁₋₄, alquilsulfinilo C₁₋₄, alquilsulfonilo C₁₋₄, haloalquiltio C₁₋₄, haloalquilsulfonilo C₁₋₄ y haloalquilsulfonilo C₁₋₄;

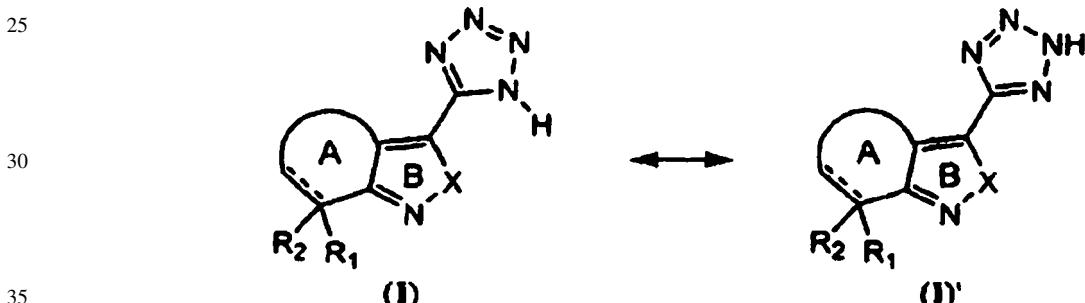
o R₂ se encuentra ausente;

¹⁰ — es un enlace sencillo en el caso de que R₂ se encuentre presente, o — es un doble enlace en el caso de que R₂ se encuentre ausente; y

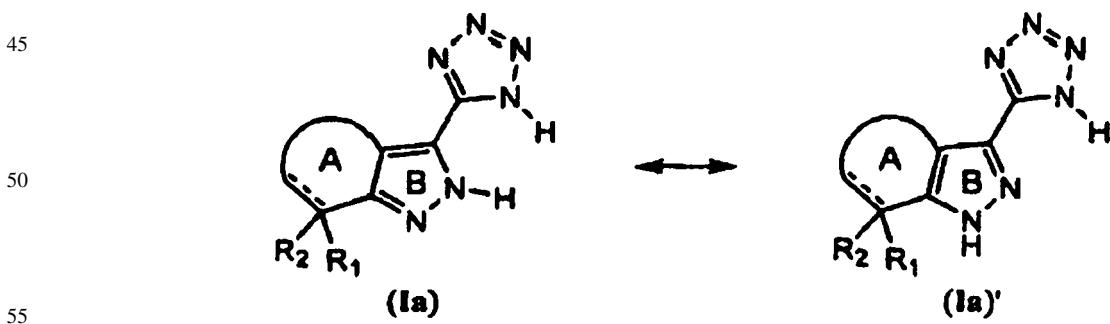
¹⁵ el anillo A es un anillo carbocíclico de 5 elementos o un anillo heterocíclico de 5 elementos opcionalmente sustituido con 1 a 4 sustituyentes seleccionados de entre el grupo que consiste en halógeno, hidroxi, tioxi, ciano, nitro, haloalquilamino C₁₋₄, alquilamino C₁₋₄, dialquilamino C₂₋₈, aluquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₄, alquenilo C₂₋₄, alquinilo C₂₋₄, cicloalquilo C₃₋₅, haloalcoxi C₁₋₄, alquiltio C₁₋₄, alquilsulfinilo C₁₋₄, alquilsulfonilo C₁₋₄, haloalquiltio C₁₋₄, haloalquilsulfonilo C₁₋₄, y haloalquilsulfonilo C₁₋₄; o

una sal, solvato o hidrato farmacéuticamente aceptable de los mismos.

²⁰ Los compuestos de la presente invención pueden existir en diversas formas tautoméricas. Por ejemplo, los expertos en la materia aprecian perfectamente que los tetrazoles pueden existir en por lo menos dos formas tautoméricas, y aunque la Fórmula (I) representa una forma, se entiende que la presente invención abarca todas las formas tautoméricas; a título ilustrativo, a continuación se muestran dos posibles tautómeros para el tetrazol de Fórmula (I):



⁴⁰ Otro ejemplo incluye realizaciones en las que X es NH. Los expertos en la materia aprecian perfectamente que pueden existir heterociclos pirazol en por lo menos dos formas tautoméricas, y aunque la Fórmula (I) representa una forma, se entiende que la presente invención abarca todas las formas tautoméricas; a título ilustrativo, a continuación se muestran dos posibles tautómeros para el pirazol en las que X es NH en la Fórmula (I):



Además, se entiende que, cuando X es NH, todos los tautómeros que pueden existir para los compuestos dados a conocer en la presente invención se encuentran dentro del alcance de la misma.

⁶⁰ La presente invención también abarca los diastereómeros, así como los isómeros ópticos, por ejemplo las mezclas de enantiómeros, incluyendo las mezclas racémicas, así como los enantiómeros y diastereómeros individuales, que surgen como consecuencia de la asimetría estructural en determinados compuestos de la presente invención. En algunas realizaciones, los compuestos de la presente invención son R. En algunas realizaciones, los compuestos de la presente invención son S. En algunas realizaciones, los compuestos de la presente invención son mezclas racémicas.

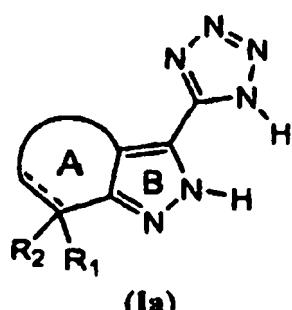
⁶⁵ Se aprecia que determinadas características de la invención que se describen, por claridad, en el contexto de diferentes realizaciones, también pueden proporcionarse en combinación en una sola realización. A la inversa, diversas

características de la invención que se describen, en aras de la brevedad, en el contexto de una sola realización, también pueden proporcionarse separadamente o en cualquier subcombinación adecuada.

5 Tal como se utiliza en la presente memoria, "sustituido" indica que por lo menos un átomo de hidrógeno del grupo químico se sustituye por un sustituyente o grupo no hidrógeno. Cuando un grupo químico en la presente invención se "sustituye", puede presentar hasta el total de la valencia de sustitución; por ejemplo, un grupo metilo puede sustituirse con 1, 2 ó 3 sustituyentes, un grupo metileno puede sustituirse con 1 ó 2 sustituyentes, un grupo fenilo puede sustituirse con 1, 2, 3, 4 ó 5 sustituyentes, etc.

10 Una realización de la presente invención se refiere a los compuestos de Fórmula (I) en la que X es NH. Esta realización puede representarse con la Fórmula (Ia), tal como se ilustra a continuación:

15



20

25

en la que cada variable en la Fórmula (Ia) presenta el mismo significado que el indicado en la presente memoria, *supra* e *infra*.

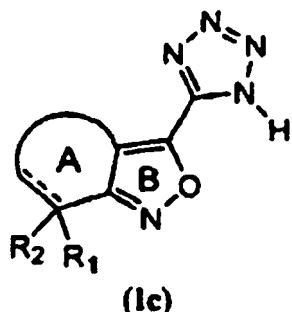
30 Una realización de la presente invención se refiere al compuesto de Fórmula (I), en la que X es NH, R₁ es H o hidroxi; R₂ es H o se encuentra ausente; - - - es un enlace sencillo en el caso de que R₂ sea H, o - - - es un doble enlace en el caso de que R₂ se encuentre ausente; y el anillo A es un anillo carbocíclico de 5 elementos o un anillo heterocíclico de 5 elementos opcionalmente sustituido con 1 a 4 sustituyentes seleccionados de entre el grupo que consiste en halógeno, alquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₄ y cicloalquilo C₃₋₅, o una sal, solvato o hidrato farmacéuticamente aceptable de los mismos.

35 Una realización de la presente invención se refiere a los compuestos de Fórmula (I) en la que X es O. Esta realización puede representarse mediante la Fórmula (Ic) tal como se ilustra a continuación:

40

45

50



55 en la que cada variable en la Fórmula (Ic) presenta el mismo significado que el indicado en la presente memoria, *supra* e *infra*.

Una realización de la presente invención se refiere a los compuestos de Fórmula (I) en la que R₁ se selecciona de entre el grupo que consiste en H, halógeno, hidroxi, haloalquilo C₁₋₄, alquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₄, alquenilo C₂₋₄, alquinilo C₂₋₄, alquilitio C₁₋₄, y haloalcoxi C₁₋₄. En algunas realizaciones, R₁ se selecciona de entre el grupo que consiste en H, halógeno, haloalquilo C₁₋₄, y alquilo C₁₋₄. En algunas realizaciones R₁ es F. En algunas realizaciones R₁ es H.

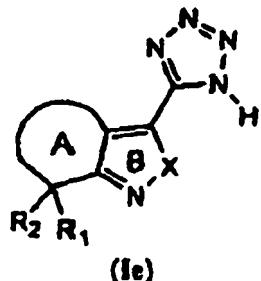
60 Una realización de la presente invención se refiere a compuestos de Fórmula (I) en la que R₂ se selecciona de entre el grupo que consiste en H, halógeno, hidroxi, haloalquilo C₁₋₄, alquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₄, alquenilo C₂₋₄, alquinilo C₂₋₄, alquilitio C₁₋₄, y haloalcoxi C₁₋₄. En algunas realizaciones, R₂ se selecciona de entre el grupo que consiste en H, halógeno, haloalquilo C₁₋₄, y alquilo C₁₋₄. En algunas realizaciones, R₂ es F. En algunas realizaciones R₂ es H.

65 Una realización de la presente invención se refiere a compuestos de Fórmula (I) en la que R₁ y R₂ son H.

ES 2 267 077 T3

Una realización de la presente invención se refiere a compuestos de Fórmula (I) en la que el anillo A es un anillo carbocíclico de 5 elementos. La expresión "anillo carbocíclico de 5 elementos" se refiere a un anillo que contiene 5 carbonos anulares, en el que dos carbonos anulares son compartidos por los anillos A y B. El anillo A puede estar saturado (es decir, sin dobles enlaces), insaturado (es decir, que contiene enlaces dobles anulares) o una combinación de los mismos. En algunas realizaciones, - - es un enlace sencillo y R₂ se encuentra presente. Esta realización puede representarse con la Fórmula (Ie), tal como se ilustra a continuación:

10



15

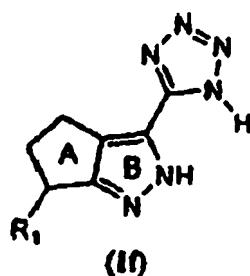
20

en la que cada variable en la Fórmula (Ie) presenta el mismo significado que el indicado en la presente memoria; *supra* e *infra*.

25

Una realización de la presente invención se refiere a los compuestos que presentan la Fórmula (If):

30



35

40

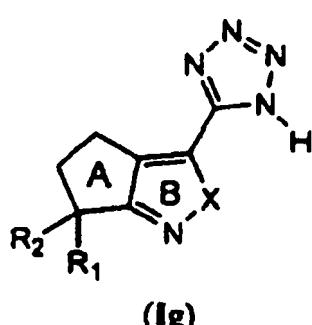
en la que:

R₁ es H o hidroxi; y el anillo A se encuentra opcionalmente sustituido con 1 ó 2 sustituyentes seleccionados de entre el grupo que consiste en halógeno, alquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₄, y cicloalquilo C₃₋₅, o una sal, solvato o hidrato farmacéuticamente aceptable de los mismos.

45

En algunas realizaciones, el anillo A es un anillo carbocíclico de 5 elementos. En una realización, el anillo A es un anillo carbocíclico de 5 elementos y puede representarse con la Fórmula (Ig) tal como se ilustra a continuación:

50



55

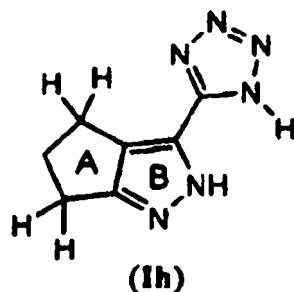
60

65

en la que cada variable en la Fórmula (Ig) presenta el mismo significado que el indicado en la presente memoria, *supra* e *infra*. En algunas realizaciones R₁ es alcoxi C₁₋₄. En algunas realizaciones R₁ es alquilo C₁₋₄. En algunas realizaciones R₁ y R₂ son H.

ES 2 267 077 T3

Una realización de la presente invención se refiere a compuestos que presentan la Fórmula (Ih):

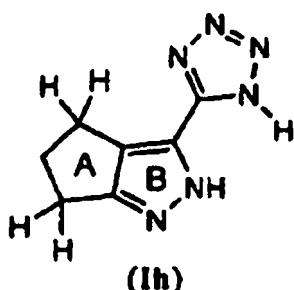


15 en la que:

20 el anillo A se encuentra opcionalmente sustituido con 1 ó 2 sustituyentes seleccionados de entre el grupo que consiste en halógeno, alquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₄ y cicloalquilo C₃₋₅, o una sal, solvato o hidrato farmacéuticamente aceptable de los mismos.

Una realización de la presente invención se refiere a compuestos que presentan la Fórmula (Ih):

25



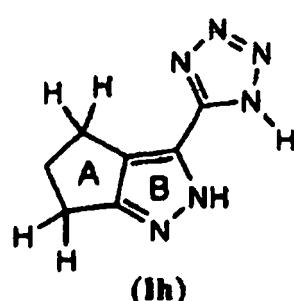
35

en la que:

40 el anillo A se encuentra sustituido con 1 ó 2 sustituyentes seleccionados de entre el grupo que consiste en halógeno, n-propilo, n-butilo, alcoxi C₁₋₄, y cicloalquilo C₃₋₅, o una sal, solvato o hidrato farmacéuticamente aceptable de los mismos.

45 Una realización de la presente invención se refiere a compuestos que presentan la Fórmula (Ih):

50



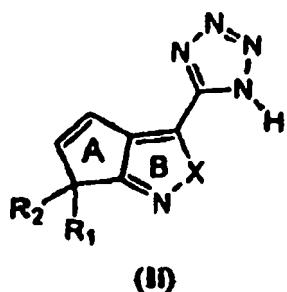
60 en la que:

el anillo A no se encuentra sustituido o se encuentra sustituido con etilo, o una sal, solvato o hidrato farmacéuticamente aceptable de los mismos.

65 En una realización, el anillo A es un anillo carbocíclico de 5 elementos y se encuentra adicionalmente insaturado (es decir, presenta un doble enlace anular). Esta realización puede representarse mediante la Fórmula (II) tal como se ilustra a continuación:

5

10

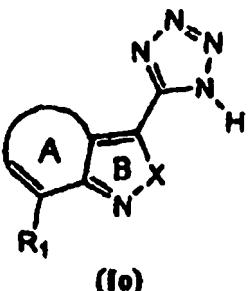


en la que cada variable en la Fórmula (II) presenta el mismo significado que el indicado en la presente memoria, *supra* e *infra*.

Una realización de la presente invención se refiere a compuestos de Fórmula (I) en los que el anillo A es un anillo carbocíclico de 5 elementos, tal como se describe en la presente memoria *supra*. En algunas realizaciones, - - - es un doble enlace y R₂ se encuentra ausente. Esta realización puede representarse mediante la Fórmula (I_o), tal como se ilustra a continuación:

25

30

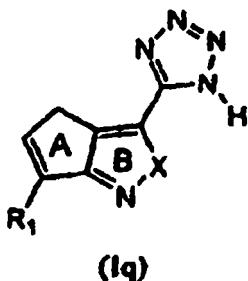


35

en la que cada variable en la Fórmula (I_o) presenta el mismo significado que el indicado en la presente memoria, *supra* e *infra*. En algunas realizaciones, el anillo A es un anillo carbocíclico de 5 elementos. Esta realización puede representarse mediante la Fórmula (Iq) tal como se ilustra a continuación:

40

45



50

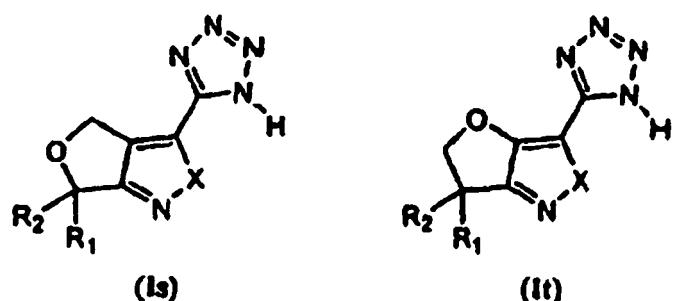
55

en la que cada variable en la Fórmula (Iq) presenta el mismo significado que el indicado en la presente memoria, *supra* e *infra*.

Una realización de la presente invención se refiere a compuestos de Fórmula (I) en los que el anillo A es un anillo heterocíclico de 5 elementos. La expresión “anillo heterocíclico de 5 elementos” se refiere a un anillo carbocíclico de 5 elementos, tal como se indica en la presente memoria *supra*, en el que 1, 2 ó 3 carbonos anulares no compartidos por los anillos A y B se sustituyen independientemente por -O-, -S-, -S(O)- o -S(O)₂- . Por claridad, tal como se describe en la presente memoria *supra*, el anillo A puede encontrarse saturado (es decir, sin dobles enlaces anulares), insaturado (es decir, contiene dobles enlaces anulares) o una combinación de los dos. En algunas realizaciones, - - - es un enlace sencillo y R₂ se encuentra presente. En algunas realizaciones, el anillo A es un anillo heterocíclico de 5 elementos. En algunas realizaciones, un carbono anular del anillo heterocíclico de 5 elementos se sustituye por un átomo anular de oxígeno; estas realizaciones pueden representarse mediante las Fórmulas (Is) y (It) siguientes:

5

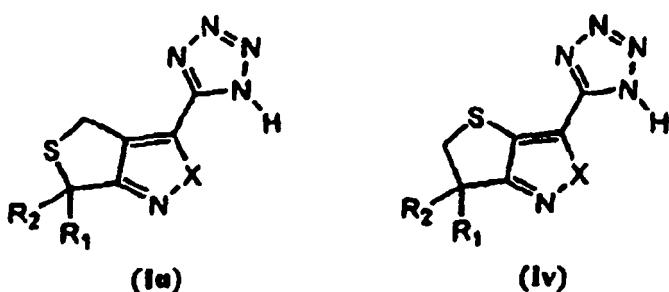
10



en las que cada variable en las Fórmulas (Ia) y (Ib) presenta el mismo significado que el indicado en la presente memoria, *supra* e *infra*. En algunas realizaciones, los compuestos de la presente invención son de Fórmula (Ia) en la que X es NH. En algunas realizaciones, los compuestos de la presente invención son de Fórmula (Ia) en la que X es O (un átomo de oxígeno). En algunas realizaciones, los compuestos de la presente invención son de Fórmula (Ib) en la que X es NH. En algunas realizaciones, los compuestos de la presente invención son de Fórmula (Ib) en la que X es O (un átomo de oxígeno). En algunas realizaciones, los compuestos de la presente invención son de Fórmula (Ia) en la que R₁ es alquilo C₁₋₄ y R₂ es H. En algunas realizaciones, los compuestos de la presente invención son de Fórmula (Ia), en la que tanto R₁ como R₂ son H. En algunas realizaciones, los compuestos de la presente invención son de Fórmula (Ib) en la que R₁ es alquilo C₁₋₄ y R₂ es H. En algunas realizaciones, los compuestos de la presente invención son de Fórmula (Ib), en la que tanto R₁ como R₂ son H. En algunas realizaciones, un carbono anular del anillo heterocíclico de 5 elementos se sustituye por un átomo anular de azufre; estas realizaciones pueden representarse mediante las Fórmulas (Ic) y (Id) siguientes:

30

35



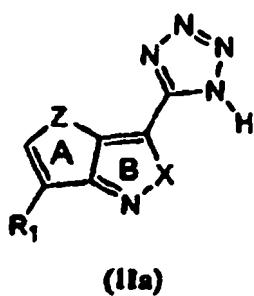
40

en las que cada variable en las Fórmulas (Ic) y (Id) presenta el mismo significado que el indicado en la presente memoria, *supra* e *infra*. En algunas realizaciones el azufre anular en las Fórmulas (Ic) y (Id) se oxida adicionalmente a sulfona (es decir, -S(O)₂-). En algunas realizaciones, los compuestos de la presente invención son de Fórmula (Ic), en la que X es NH. En algunas realizaciones, los compuestos de la presente invención son de Fórmula (Ic) en la que X es O (un átomo de oxígeno). En algunas realizaciones, los compuestos de la presente invención son de Fórmula (Id) en la que X es NH. En algunas realizaciones, los compuestos de la presente invención son de Fórmula (Id) en la que X es O (un átomo de oxígeno).

Una realización de la presente invención se refiere a compuestos de Fórmula (I) en la que el anillo A es un anillo heterocíclico de 5 elementos. En algunas realizaciones - - - es un doble enlace y R₂ se encuentra ausente. En algunas realizaciones, el anillo A es un anillo heterocíclico de 5 elementos. Esta realización puede representarse mediante la Fórmula (IIa), tal como se ilustra a continuación:

55

60



65

en la que cada variable en la Fórmula (IIa) presenta el mismo significado que el indicado en la presente memoria, *supra* e *infra*, y Z es -O-, -S-, -S(O)- o -S(O)₂-.

Una realización de la presente invención se refiere a compuestos de Fórmula (I) y subgéneros dados a conocer en la presente memoria, en los que el anillo A se encuentra opcionalmente sustituido con sustituyentes seleccionados de entre el grupo que consiste en halógeno, hidroxi, haloalquilo C₁₋₄, alquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₄, alquenilo C₂₋₄, alquinilo C₂₋₄, alquiltio C₁₋₄, y haloalcoxi C₁₋₄. En algunas realizaciones, el anillo A se sustituye opcionalmente con sustituyentes seleccionados de entre el grupo que consiste en halógeno, haloalquilo C₁₋₄, y alquilo C₁₋₄. En algunas realizaciones, el anillo A se sustituye opcionalmente con F. En algunas realizaciones, el anillo A se sustituye opcionalmente con 1 a 4 sustituyentes. En algunas realizaciones, el anillo A se sustituye opcionalmente con 1 a 3 sustituyentes. En algunas realizaciones, el anillo A se sustituye opcionalmente con 1 a 2 sustituyentes. En algunas realizaciones, el anillo A se sustituye opcionalmente con 1 sustituyente. En algunas realizaciones, el anillo A no se encuentra sustituido.

Reacciones de la presente invención

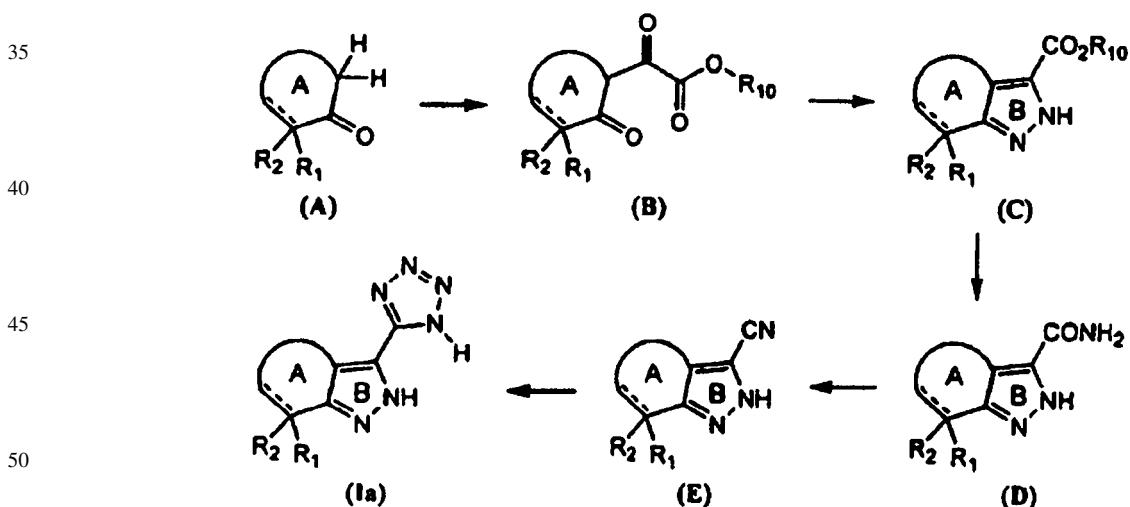
15 Síntesis de compuestos de Fórmula (I)

Tal como se describe en la presente memoria un procedimiento sintético para la preparación de nuevos tetrazoles de Fórmula (I). Los compuestos de la presente invención pueden prepararse fácilmente de acuerdo con este nuevo procedimiento utilizando una diversidad de materiales de partida que se encuentran disponibles comercialmente o prepararse fácilmente mediante regímenes sintéticos que resultarán familiares para el experto en la materia. En las síntesis ilustradas que se muestran en términos generales posteriormente, a menos que se indique lo contrario, los sustituyentes señalados presentan las mismas identificaciones que las indicadas en las definiciones de los compuestos proporcionadas anteriormente para la Fórmula (I).

25 Un procedimiento que puede utilizarse para la preparación de compuestos de la invención en los que X es NH (es decir el anillo B es un pirazol) utiliza intermedios derivados de la cetona cíclica de Fórmula (A) tal como se ilustra en el Esquema de Reacción I a continuación:

30

Esquema I



55 Los compuestos de Fórmula (Ia) pueden prepararse haciendo reaccionar una cetona cíclica de Fórmula (A) con dialquiloxalato de Fórmula (C(O)OR₁₀)₂, en la que R₁₀ es un alquilo C₁₋₈, en presencia de una base y de un solvente polar tal como, aunque sin limitarse a ellos, alkanol C₁₋₈, metanol, etanol, butanol, pentanol, hexanol, 2-metoxietanol, isopropanol, THF, DMF, y similares, proporcionando el cetoéster de Fórmula (B). Entre las bases adecuadas se incluyen los alcóxidos de metal alcalino, por ejemplo metóxido sódico, etóxido sódico, etóxido de potasio, t-butóxido de potasio y similares; amidas de metal alcalino (es decir metal alcalino-NR₁₁, en la que R₁₁ es alquilo C₁₋₈ o silil-alquilo C₁₋₈), por ejemplo diisopropilamida litio, hexametildisilazano litio, hexametildisilazano sódico, hexametildisilazano potasio y bases similares. El cetoéster (B) se hace reaccionar con hidrazina, puede utilizarse hidrazina protegida o no protegida, bajo condiciones adecuadas para proporcionar éster de pirazol de Fórmula (C). Opcionalmente, el pirazol puede protegerse, por ejemplo con un grupo bencilo y similar. El éster se convierte en amida de Fórmula (D) utilizando procedimientos conocidos por el experto en la materia, por ejemplo tratado con amonio en un solvente polar a una temperatura entre la temperatura ambiente y el punto de ebullición del solvente. La amida (D) se hace reaccionar con un reactivo deshidratante, tal como oxicloruro de fósforo, pentaóxido de fósforo, cloruro de tionilo y similar, sea en forma pura o en presencia de solvente no prótico, tal como acetonitrilo, DMF y similar, proporcionando nitrilo (E). El

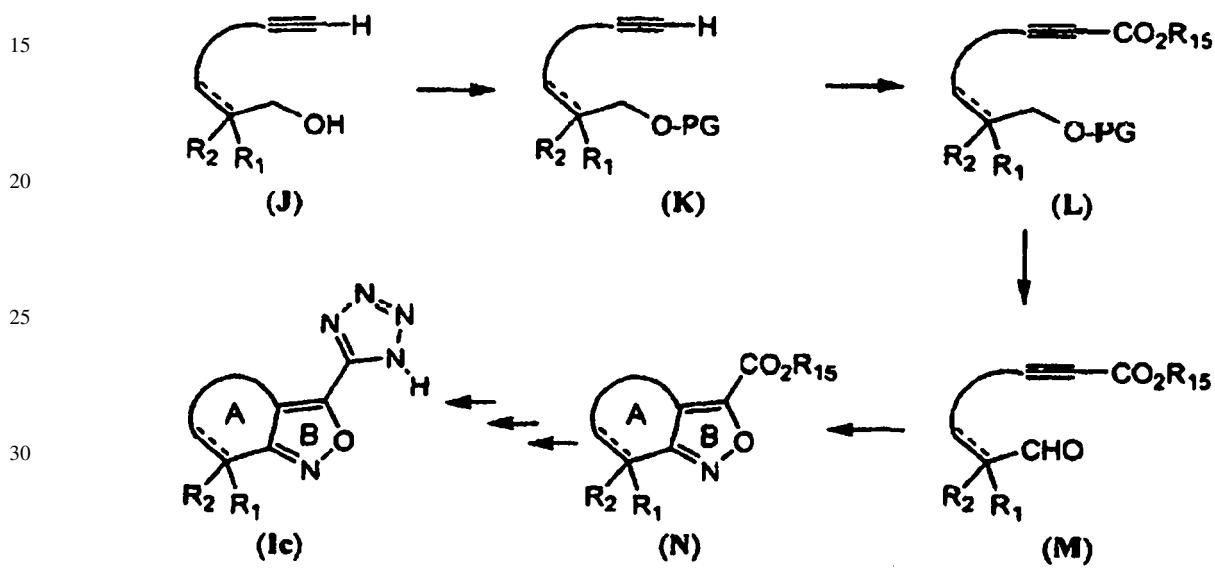
nitrilo (E) se hace reaccionar con una azida (es decir N_3) o equivalente de azida, tal como azida sódica, azida potásica, trimetilsilil azida (es decir, $(\text{CH}_3)_3\text{SiN}_3$) y similares, proporcionando un tetrazol de Fórmula (Ia). En algunos casos puede resultar beneficioso incluir un ácido de Lewis, por ejemplo AlCl_3 , ZnBr_2 y similar, en un solvente adecuado, tal como, DMF y similar.

5

Un procedimiento que puede utilizarse para la preparación de compuestos de Fórmula (I) en la que X es un oxígeno anular (es decir, el anillo B es un isoxazol) utiliza intermedios derivados del alcohol alquinilo de Fórmula (J), tal como se ilustra en el Esquema de reacción II a continuación:

10

Esquema II



35

Pueden prepararse compuestos de Fórmula (Ic) mediante la protección de un alcohol alquinilo de Fórmula (J) con un grupo protector adecuado, por ejemplo THP, TBDMS y similar, proporcionando alquinilo (K). El alquinilo (K) se convierte en un alquinil éster de Fórmula (L, en la que R₁₅ es alquilo C₁₋₈) mediante tratamiento con una base fuerte seguido de la reacción con un cloroformato de alquilo C₁₋₈. Una base fuerte adecuada es un alquil litio, por ejemplo, aunque sin limitarse a ellos, n-butil litio, t-butil litio y similar. El intermedio (L) seguidamente se desprotege utilizando procedimientos conocidos por los expertos en la materia, por ejemplo, el grupo THP típicamente puede eliminarse mediante tratamiento con un ácido (por ejemplo PTS) y el grupo TBDMS típicamente puede eliminarse mediante tratamiento con un fluoruro de tetraalquilamonio. El alcohol resultante se oxida a aldehído (M) utilizando cualquiera de entre una diversidad de procedimientos, por ejemplo peryodinano de Dess-Martin (es decir 1,1,1-triacetoxi-1,1-dihidro-1,2-benziodoxol-3(1)-ona), oxidación de Swem, oxidación de Corey con NCS o con cualquier otro procedimiento adecuado tal como describe Hudlicky, M. en *Oxidations in Organic Chemistry*, ACS Monograph 186, 1990. El aldehído (M) se trata con hidroxilamina en presencia de una base, seguido de NCS y de una base, proporcionando alquiléster de isoxazol (N). El isoxazol (N) puede convertirse en compuestos de Fórmula (Ic) de una manera sustancialmente similar a la descrita anteriormente en el Esquema de reacción I (es decir, -CO₂-alquilo C₁₋₈ → CONH₂ → C≡N → tetrazol).

40

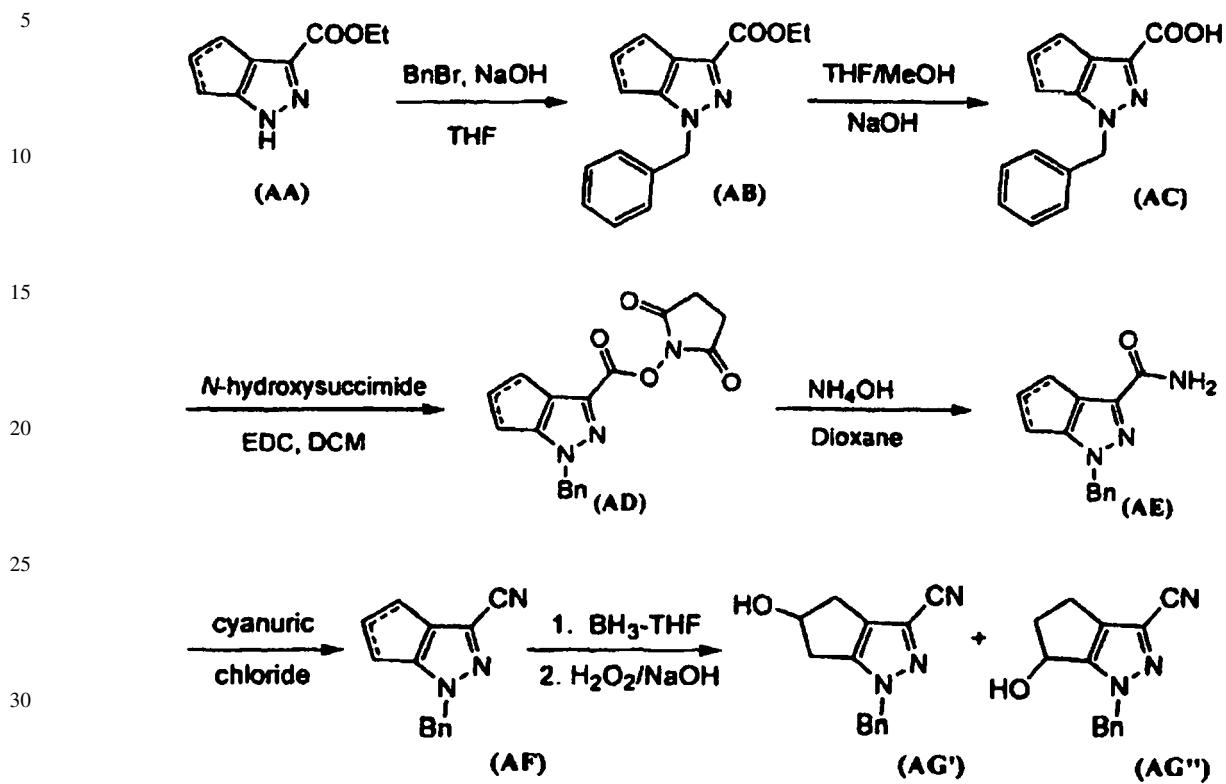
Un procedimiento que puede utilizarse para la preparación de determinados compuestos de Fórmula (I) utiliza el intermedio (AJ) tal como se ilustra en los Esquemas de reacción III y IV a continuación:

45

55

60

Esquema III



Los compuestos de estructura (AJ) (en la que R es alquilo C₁₋₄, alquenilo C₂₋₄ y alquinilo C₂₋₄) pueden prepararse mediante el tratamiento de pirazol insaturado (AA) con bromuro de bencilo en un solvente adecuado, tal como THF, en presencia de NaOH como la base, proporcionando el N-bencilo pirazol (AB). El pirazol (AB) puede saponificarse utilizando procedimientos conocidos por el experto en la materia, por ejemplo tratando con hidróxido sódico acuosa o en una mezcla de solventes, tal como THF/MeOH. El ácido (AC) se acopla con N-hidroxisuccinimida utilizando un reactivo de acoplamiento, tal como EDC. El éster (AD) se convierte en la amida (AE) mediante tratamiento con solución concentrada de NH₄OH en un solvente tal como 1,4-dioxano. La amida (AE) puede hacerse reaccionar con un reactivo deshidratante, tal como cloruro cianúrico, anhídrido trifluoroacético, cloruro de tionilo y similar, en presencia de un solvente no protólico, tal como DMF, proporcionando el nitrilo (AF). El nitrilo (NF) se trata con un exceso de solución de borano-THF en un solvente tal como THF a temperatura reducida, seguido de la oxidación con peróxido de hidrógeno en presencia de hidróxido sódico, proporcionando una mezcla 1:1 de alcoholes, representada como (AG') y (AG'').

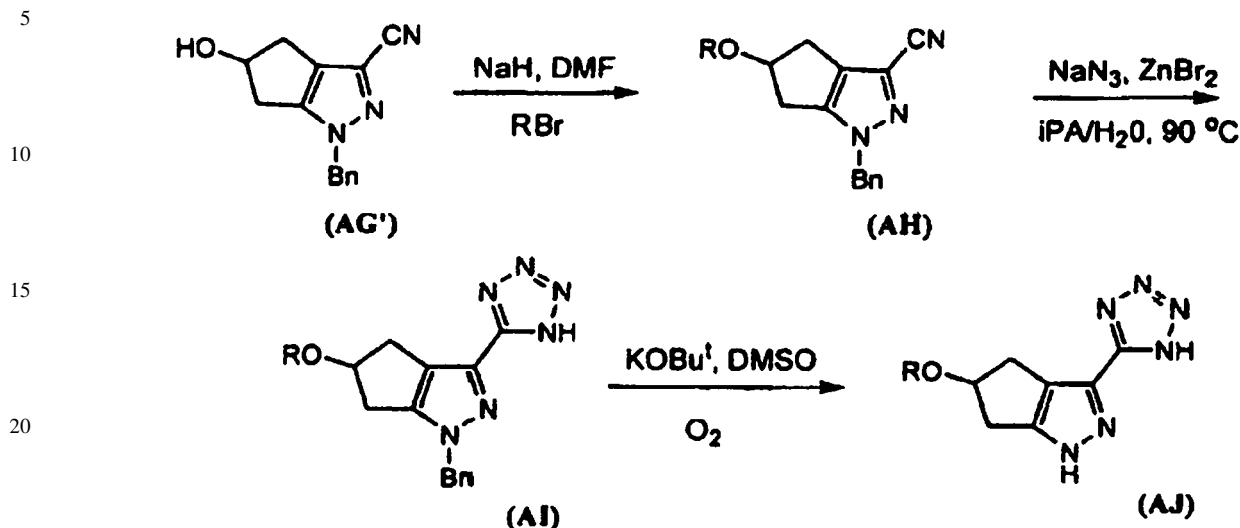
Mediante la utilización de alcohol (AG') o alcohol (AG'') puede prepararse una diversidad de éteres. Se muestra una síntesis representativa en el Esquema de reacción IV utilizando alcohol (AG'). Se entiende que puede utilizarse un esquema sintético similar a partir del alcohol (AG'').

55

60

65

Esquema IV



Los compuestos de estructura (AH) pueden prepararse mediante tratamiento del intermedio alcohol (AG') con un exceso de haluro de alquilo en presencia de una base, tal como hidruro sódico, en un solvente aprótico, tal como DMF. El nitrilo (AH) se hace reaccionar con una azida, tal como azida sódica, en presencia de un ácido de Lewis, tal como bromuro de cinc, proporcionando el tetrazol de la estructura (AI). Los compuestos finales pueden prepararse mediante la eliminación del grupo protector bencilo bajo condiciones oxidativas en un solvente tal como DMSO utilizando una base tal como t-butóxido de potasio y gas oxígeno.

Un procedimiento que puede utilizarse para la preparación de determinados compuestos de Fórmula (I) utiliza intermedios (AS), tal como se ilustra en el Esquema de reacción V a continuación:

40 (Esquema pasa a página siguiente)

45

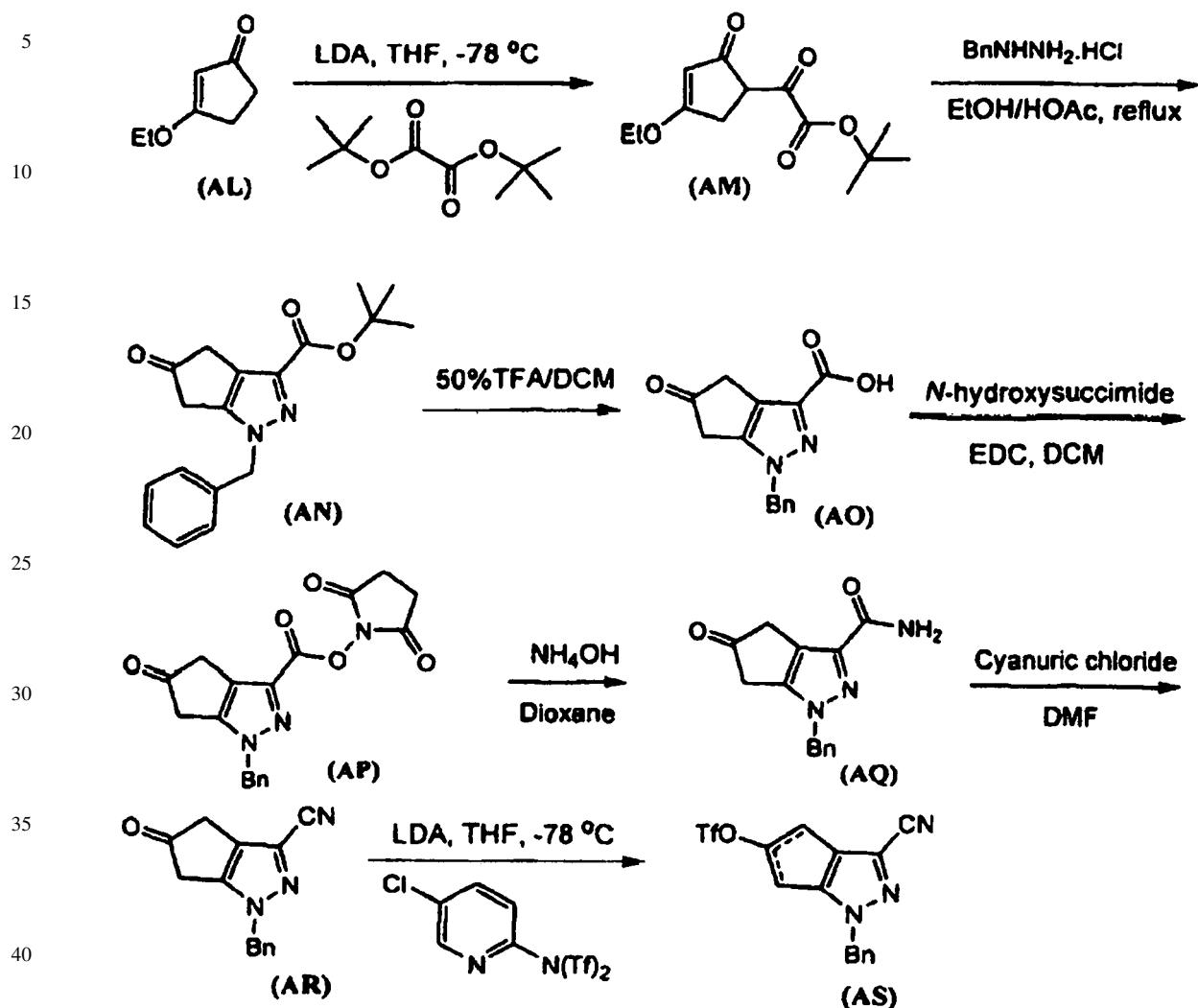
50

55

60

65

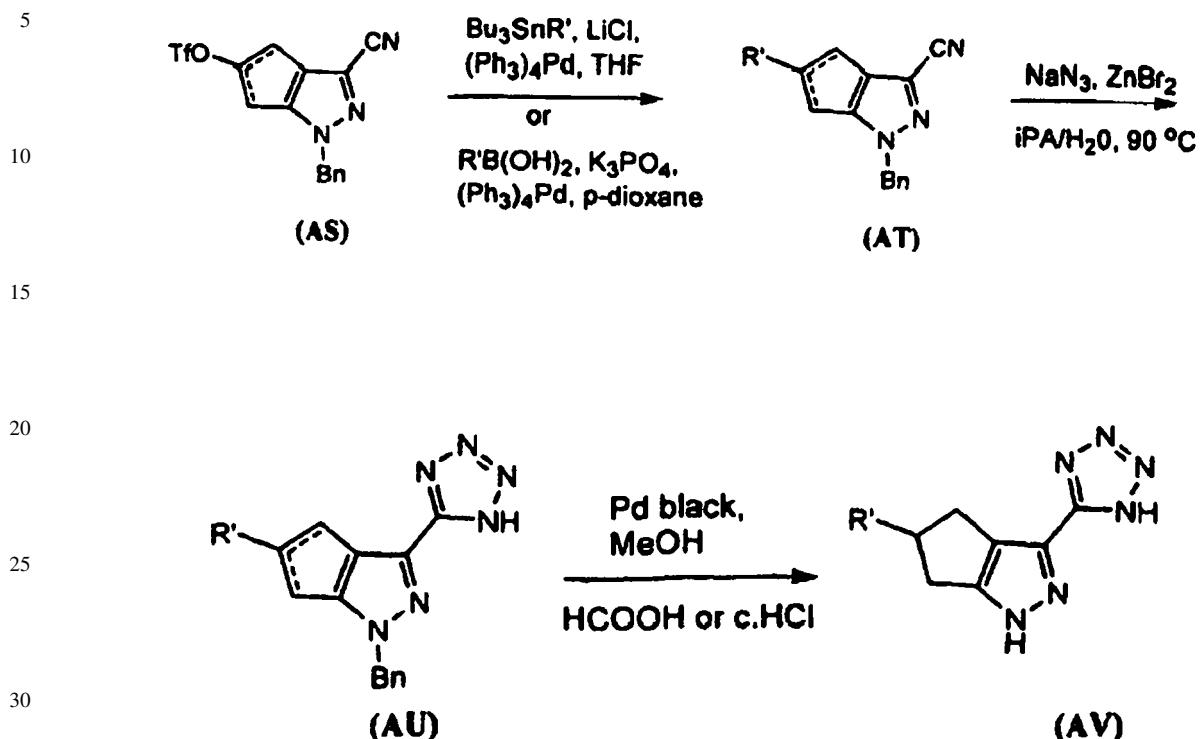
Esquema V



Los compuestos de estructura (AV) pueden prepararse a partir de 3-etoxi-ciclopentenona mediante tratamiento con dialquiloxalato, tal como di-terc-butil oxalato o dietiloaloxalato en presencia de una base no nucleofílica, tal como LDA o LHMDS en un solvente, tal como THF, proporcionando el cetoéster (AM). El cetoéster (AM) se hace reaccionar con bencil hidrazina bajo reflujo en un solvente polar, tal como etanol o metanol que contiene ácido acético glacial, proporcionando el pirazol (AN). Alternativamente, el cetoéster (AM) puede hacerse reaccionar con hidrazina, seguido de la alquilación del pirazol con bromuro de bencilo utilizando carbonato de cesio como la base en un solvente no protílico, tal como DMF. El pirazol éster (AN) puede convertirse en el nitrilo (AR) utilizando una secuencia de etapas similar a la descrita para (AG'). La cetona (AR) se convierte en el triflato de vinilo (AS) utilizando reactivo de Commin en presencia de LDA en un solvente tal como THF.

Utilizando el compuesto (AS) puede introducirse en C-5 una diversidad de sustituyentes (en los que R' es alquilo C₁₋₄, alquenilo C₂₋₄ y alquinilo C₂₋₄), tal como se muestra en el Esquema de reacción VI.

Esquema VI



35 El triflato (AS) puede hacerse reaccionar con un reactivo estanano adecuado en presencia de una base, tal como cloruro de litio y un catalizador, tal como tetracis trifenil fosfina-paladio (0) en un solvente adecuado, tal como THF o tolueno. Alternativamente, el triflato (AS) puede hacerse reaccionar con un alquenil ácido borónico adecuado en presencia de una base, tal como fosfato de potasio y un catalizador, tal como tetracis trifenil fosfina paladio (0) en un solvente adecuado, tal como 1,4-dioxano. El nitrilo (AT) se hace reaccionar con una azida, tal como azida sódica, en presencia de un ácido de Lewis, tal como bromuro de zinc, proporcionando el tetrazol de la estructura (AU). Los compuestos finales se preparan mediante la eliminación del grupo protector bencilo, que puede llevarse a cabo bajo condiciones reductores utilizando negro de paladio en un solvente polar, tal como metanol o etanol, y ácido, tal como ácido fórmico o ácido hidroclórico concentrado.

40 45 Alternativamente, el alcohol (AG') puede fluorarse utilizando procedimientos conocidos por los expertos en la materia, tales como DAST (trifluoruro de (diethylamino)azufre), proporcionando un compuesto fluoro que puede elaborarse para formar su derivado tetrazol y desprotegerse utilizando procedimientos descritos en la presente memoria.

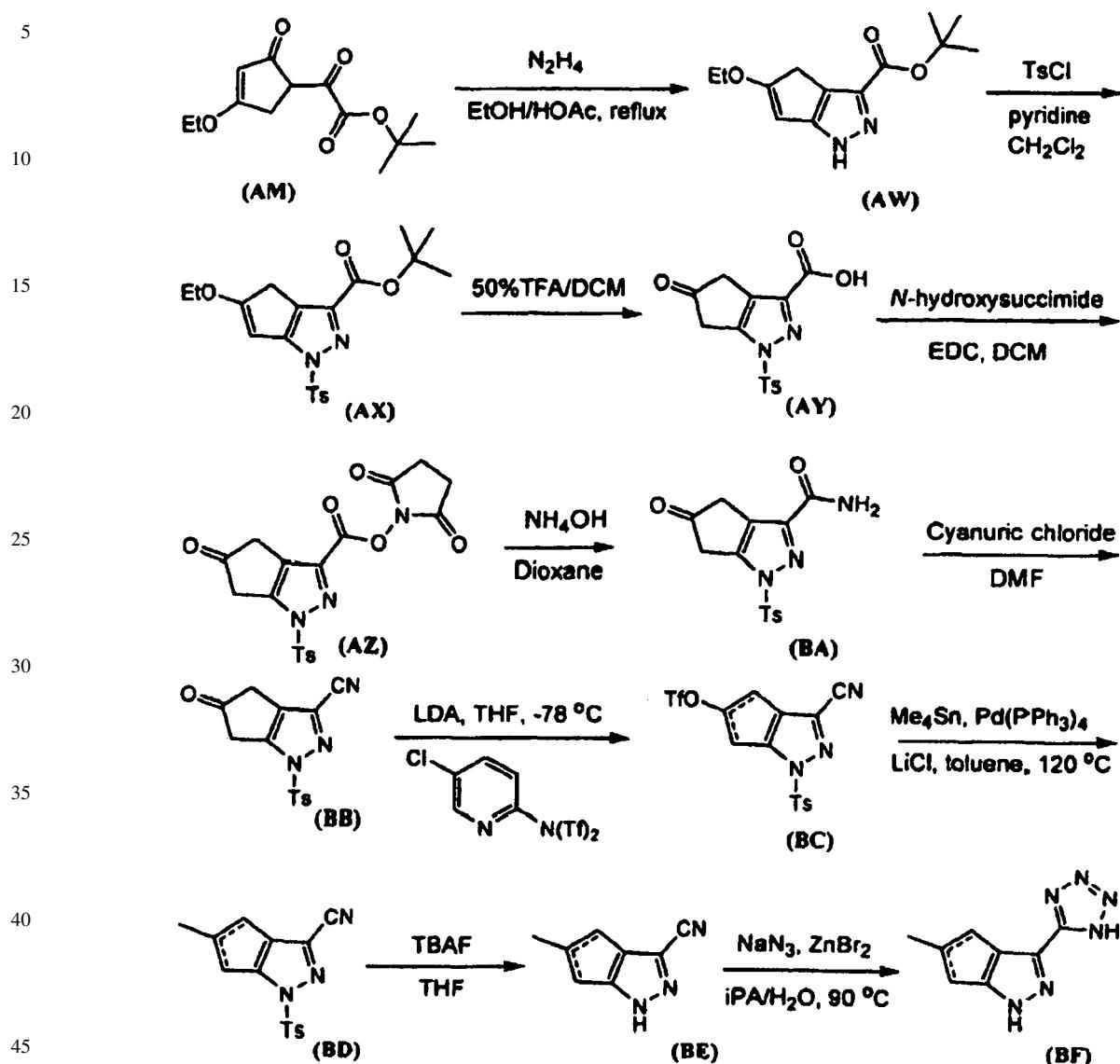
50 Un procedimiento que puede utilizarse para la preparación de determinados compuestos de Fórmula (I) se ilustra en el Esquema de reacción VII a continuación:

55

60

65

Esquema VII



Puede prepararse un compuesto de la estructura (BF) a partir del cetoéster (AM) mediante la reacción con hidrato de hidrazina en un solvente polar, tal como etanol que contiene ácido acético glacial, proporcionando el pirazol (AW). El pirazol (AW) puede hacerse reaccionar con cloruro de sulfonilo, tal como cloruro de p-toluenosulfónico en un solvente, tal como CH₂Cl₂, en presencia de una base, tal como piridina, proporcionando el derivado N-sulfonilado (AX). El éster pirazol (AX) puede desprotegerse bajo condiciones ácidas utilizando un ácido, tal como TFA en CH₂Cl₂, formando (AY). El pirazol ácido (AY) puede convertirse en el nitrilo (BB) utilizando una secuencia de etapas similar a la descrita para (AG'). La cetona (BB) puede convertirse en el triflato de vinilo (BC) utilizando reactivo de Commin en presencia de una base, tal como LDA en un solvente, tal como THF.

El triflato (BC) puede acoplarse con tetrametiltinna en presencia de una base, tal como cloruro de litio y una catalizador, tal como tetracis trifenil fosfina paladio (0) en un solvente adecuado, tal como THF o tolueno. El grupo p-tolueno sulfonilo puede eliminarse mediante reacción con solución de fluoruro de tetrabutilamonio en un solvente, tal como THF, proporcionando el pirazol (BE). El compuesto final se prepara mediante reacción del nitrilo (BE) con una azida, tal como azida sódica, en presencia de un ácido de Lewis, tal como bromuro de zinc, proporcionando el tetrazol (BF).

Las diversas transformaciones de grupos orgánicos y grupos protectores utilizadas en la presente invención pueden llevarse a cabo mediante varios procedimientos diferentes de aquellos descritos anteriormente. Las referencias de otros procedimientos sintéticos que pueden utilizarse para la preparación de intermedios o compuestos dados a conocer en

ES 2 267 077 T3

la presente invención pueden encontrarse en, por ejemplo, Smith, M.B y March, J., Advanced Organic Chemistry, 5a edición, Wiley-Interscience, 2001; Larock, R.C., Comprehensive Organic Transformations, A Guid to Functional Group Preparations, 2a edición, VCH Publishers, Inc., 1999, o Wuts, P.G.M., Greene, T.W., Protective Groups in Organic Synthesis, 3a edición, John Wiley and Sons, 1999, incorporando los tres en la presente invención como referencias en su totalidad.

Los compuestos de Fórmula (I) pueden presentar uno o más centros quirales, y por lo tanto existen como enantiómeros o diastereómeros. La invención se entiende que se extiende a todos estos enantiómeros, diastereómeros y mezclas de los mismos, incluyendo los racematos. La Fórmula (I) y las fórmulas indicadas en la presente memoria, 10 *supra*, pretenden representar todos los isómeros individuales y mezclas de los mismos, a menos que se indique o se muestre lo contrario.

Pueden resolverse las mezclas racémicas en los enantiómeros ópticamente puros mediante procedimientos conocidos, por ejemplo mediante la separación de las sales diastereoisoméricas con un ácido ópticamente activo, y liberando 15 el compuesto amina ópticamente activo mediante tratamiento con una base. Otro procedimiento para resolver los racematos en los enantiómeros ópticamente puros se basa en la cromatografía sobre una matriz o soporte quiral ópticamente activo. De esta manera, pueden resolverse determinados compuestos racémicos de la presente invención en sus antípodas ópticas, por ejemplo mediante cristalización fraccionada de sales d- o l-(tartrato, mandelato o camfor-sulfonato), por ejemplo. Los compuestos de la presente invención también pueden resolverse mediante la formación 20 de amidas o éster diastereoméricos mediante la reacción de los compuestos de la presente invención con un ácido carboxílico activado ópticamente activo, tal como el derivado de la (+) o (-)-fenilalanina, (+) o (-) fenilglicina, ácido (+) o (-) canfánico o mediante la formación de carbamatos diastereoméricos mediante reacción de los compuestos de la presente invención con un cloroformato ópticamente activo o similar que posteriormente se hidroliza.

25 Pueden utilizarse procedimientos adicionales para la resolución de isómeros ópticos conocidos por los expertos en la materia, y resultarán evidentes para el experto ordinario en la materia. Entre estos procedimientos se incluyen aquellos comentados por J. Jaques, A. Collet y S. Wilen en: "Enantiomers, Racemates, and Resolutions", John Wiley and Sons, New York, 1981.

30 Se muestran a continuación en la Tabla A ejemplos representativos del compuesto de Fórmula (I).

35 (Tabla pasa a página siguiente)

40

45

50

55

60

65

TABLA A

5 Compuesto núm.	Estructura	Nombre químico
10 1		3-(1H-tetrazol-5-il)- 2,4,5,6-tetrahydro- ciclopentapiroazol
15 2		3-(1H-tetrazol-5-il)-2,6- dihidro-4H-tieno[3,4- c]pirazol
20 3		6-metil-3-(1H-tetrazol-5- il)-2,6-dihidro-4H- furo[3,4-c]pirazol
25 40 45 50 55 60 65		3-(1H-tetrazol-5-il)-2,4- dihidrociclopentapiroazol

ES 2 267 077 T3

TABLA A (continuación)

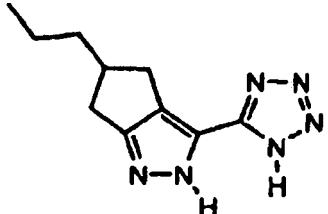
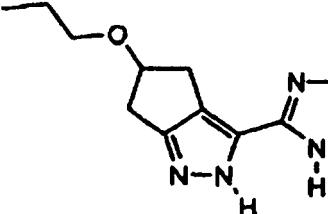
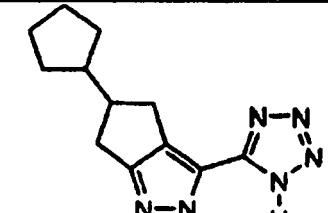
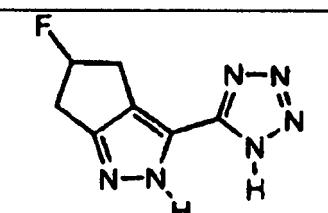
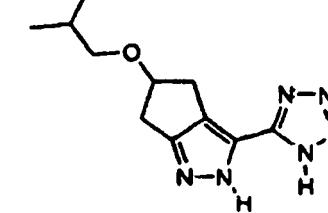
5		3-(1H-tetrazol-5-il)-2,6-dihidrocyclopentapirazol
6		3-(1H-tetrazol-5-il)-2,6-dihydro-4H-furo[3,4-c]pirazol
7		5-etil-3-(1H-tetrazol-5-il)-2,4,5,6-tetrahydrocyclopentapirazol
8		5-butil-3-(1H-tetrazol-5-il)-2,4,5,6-tetrahydrocyclopentapirazol
9		5-metil-3-(1H-tetrazol-5-il)-2,6-dihydrcyclopentapirazol
10		5-metil-3-(1H-tetrazol-5-il)-2,4-dihydrcyclopentapirazol

60

65

ES 2 267 077 T3

TABLA A (continuación)

5	11		5-propil-3-(1H-tetrazol-5-il)-2,4,5,6-tetrahydropyrazocin
10			
15	12		5-propoxi-3-(1H-tetrazol-5-il)-2,4,5,6-tetrahydropyrazocin
20			
25	13		5-ciclopentil-3-(1H-tetrazol-5-il)-2,4,5,6-tetrahydropyrazocin
30			
35	14		5-fluoro-3-(1H-tetrazol-5-il)-2,4,5,6-tetrahydropyrazocin
40			
45	15		5-isobutoxi-3-(1H-tetrazol-5-il)-2,4,5,6-tetrahydropyrazocin
50			
55			

60

65

TABLA A (continuación)

5	16 	5-butoxi-3-(1H-tetrazol-5-il)-2,4,5,6-tetrahydropyran-6-ol
10		
15		
20	17 	3-(1H-tetrazol-5-il)-2,4,5,6-tetrahydropyran-6-ol
25		
30	18 	5-methoxy-3-(1H-tetrazol-5-il)-2,4,5,6-tetrahydropyran-6-ol
35		
40	19 	5,5-difluoro-3-(1H-tetrazol-5-il)-2,4,5,6-tetrahydropyran-6-ol
45		
50	20 	5-ethoxy-3-(1H-tetrazol-5-il)-2,4,5,6-tetrahydropyran-6-ol
55		

Métodos y usos

60

Los compuestos de la presente invención resultan útiles en la inhibición de la producción de ácidos grasos libres. Además, los compuestos de la presente invención resultan útiles en la inhibición de la producción de ácidos grasos libres, resultando simultáneamente en efectos secundarios de enrojecimiento sustancialmente menores o en algunos casos no detectables, efectos con frecuencia asociados a la administración de la niacina. Los compuestos de la presente invención típicamente no provocan vasodilatación a dosis tan elevadas como aproximadamente 300 mpk según medición utilizando procedimientos conocidos en la técnica, tales como el procedimiento mostrado en el Ejemplo 7.

65

En algunas realizaciones, los compuestos de la presente invención no causan esencialmente ningún enrojecimiento mensurable en un individuo en comparación con una dosis esencialmente igual de eficaz de niacina. En otras realizaciones, los compuestos de la presente invención causan un nivel mensurable de enrojecimiento inferior a aproximadamente 80%, 75%, 70%, 65%, 60%, 55%, 50%, 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15%, 10%, 5% o 1% en un individuo en comparación con una dosis esencialmente igual de eficaz de niacina.

Los compuestos de la presente invención pueden modular la actividad del receptor RUP25. El término "modular" pretende referirse a la capacidad de incrementar o de reducir la actividad del receptor. En algunas realizaciones, los compuestos de la invención pueden utilizarse en procedimientos para modular un receptor RUP25 mediante el contacto del receptor con uno o más cualesquiera de los compuestos indicados en la presente invención. En todavía otras realizaciones, los compuestos de la invención pueden utilizarse en procedimientos de modulación de un receptor RUP25 para el tratamiento de un trastorno relacionado con el metabolismo en un individuo que necesita de la modulación, comprendiendo poner en contacto el receptor con una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmula (I). En algunas realizaciones, los compuestos de la invención incrementan la actividad del receptor RUP25. En realizaciones adicionales, los compuestos de la invención son agonistas del receptor RUP25. El término "agonista", tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a agentes que pueden estimular la actividad del receptor (es decir activarlo), por ejemplo del receptor RUP25. En algunas realizaciones, los compuestos de la invención son agonistas parciales del receptor RUP25.

También se describen en la presente memoria procedimientos de tratamiento de un trastorno relacionado con el metabolismo que comprende administrar a un individuo que necesita de dicho tratamiento una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmula (I).

También se describen en la presente memoria procedimientos de desarrollo de HDL en un individuo, que comprenden administrar a dicho individuo una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmula (I).

Otro aspecto de la presente invención se refiere a compuestos de Fórmula (I), tal como se describe en la presente memoria, para la utilización en un procedimiento de tratamiento del cuerpo humano o animal mediante terapia.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a compuestos de Fórmula (I), tal como se describe en la presente memoria, para la utilización en un procedimiento de tratamiento de un trastorno relacionado con el metabolismo del cuerpo humano o animal mediante terapia.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a compuestos de Fórmula (I), tal como se describe en la presente memoria, para la utilización en un procedimiento de tratamiento de un trastorno relacionado con el metabolismo del cuerpo humano o animal mediante terapia, en el que dicho trastorno relacionado con el metabolismo se selecciona de entre el grupo que consiste en dislipidemia, ateroesclerosis, enfermedad cardíaca coronaria, resistencia a la insulina, obesidad, alteración de la tolerancia a la glucosa, enfermedad ateromatosa, hipertensión, accidente cerebrovascular, síndrome X, enfermedad cardíaca y diabetes de tipo 2.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a compuestos de Fórmula (I), tal como se describe en la presente memoria, para la utilización en un procedimiento de tratamiento de un trastorno relacionado con el metabolismo del cuerpo humano o animal mediante terapia, en el que dicho trastorno relacionado con el metabolismo se selecciona de entre el grupo que consiste en dislipidemia, ateroesclerosis, enfermedad cardíaca coronaria, resistencia a la insulina y diabetes de tipo 2.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a compuestos de Fórmula (I), tal como se describe en la presente memoria, para la utilización en un procedimiento de tratamiento de la ateroesclerosis del cuerpo humano o animal mediante terapia.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a compuestos de Fórmula (I), tal como se describe en la presente memoria, para la utilización en un procedimiento de desarrollo de HDL del cuerpo humano o animal mediante terapia.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a la utilización de los compuestos de Fórmula (I), tal como se describe en la presente memoria, para la preparación de un medicamento para la utilización en el tratamiento de un trastorno relacionado con el metabolismo.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a los usos de los compuestos de Fórmula (I), tal como se describen en la presente memoria, para la preparación de un medicamento para la utilización en el tratamiento de un trastorno relacionado con el metabolismo seleccionado de entre el grupo que consiste en dislipidemia, ateroesclerosis, enfermedad cardíaca coronaria, resistencia a la insulina, obesidad, tolerancia alterada a la glucosa, enfermedad ateromatosa, hipertensión, accidente cerebrovascular, síndrome X, enfermedad cardíaca y diabetes de tipo 2.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a los usos de los compuestos de Fórmula (I), tal como se describen en la presente memoria, para la preparación de un medicamento para la utilización en el tratamiento de la ateroesclerosis.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a los usos de los compuestos de Fórmula (I), tal como se describe en la presente memoria, para la preparación de un medicamento para la utilización en el desarrollo de HDL en un individuo.

5 Algunas realizaciones de la presente invención se refiere a procedimientos de tratamiento de trastornos relacionados con el metabolismo. En algunas realizaciones, el trastorno relacionado con el metabolismo es del grupo que consiste en dislipidemia, ateroesclerosis, enfermedad cardíaca coronaria, resistencia a la insulina, obesidad, tolerancia alterada a la glucosa, enfermedad ateromatosa, hipertensión, accidente cerebrovascular, síndrome X, enfermedad cardíaca y diabetes de tipo 2. En algunas realizaciones, el trastorno relacionado con el metabolismo es dislipidemia, 10 ateroesclerosis, enfermedad cardíaca coronaria, resistencia a la insulina y diabetes de tipo 2. En algunas realizaciones, el trastorno relacionado con el metabolismo es la dislipidemia. En algunas realizaciones el trastorno relacionado con el metabolismo es la ateroesclerosis. En algunas realizaciones, el trastorno relacionado con el metabolismo es la enfermedad cardíaca coronaria. En algunas realizaciones, el trastorno relacionado con el metabolismo es la resistencia a 15 la insulina. En algunas realizaciones el trastorno relacionado con el metabolismo es la diabetes de tipo 2.

15 En algunas realizaciones de la presente invención, el individuo es un mamífero. En realizaciones adicionales, el mamífero es un ser humano.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a procedimientos de producción de una composición farmacéutica 20 que comprende mezclar o combinar un compuesto de Fórmula (I), tal como se describe en la presente memoria, y un portador farmacéuticamente aceptable.

Composiciones de la presente invención

25 Algunas de las realizaciones de la presente invención incluyen composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto según la Fórmula (I) en combinación con un portador farmacéuticamente aceptable.

Algunas realizaciones de la presente invención incluyen un procedimiento de producción de una composición farmacéutica que comprende mezclar por lo menos un compuesto según cualquiera de las realizaciones de compuesto 30 dadas a conocer en la presente invención y un portador farmacéuticamente aceptable.

Las formulaciones pueden prepararse mediante cualquier procedimiento adecuado, típicamente mediante la mezcla uniforme del compuesto o compuestos activo con líquidos o portadores sólidos finamente divididos, o ambos, en las proporciones necesarias, y después, si resulta necesario, formar la mezcla resultante en una forma deseada.

35 Pueden utilizarse excipientes convencionales, tales como agentes ligantes, rellenos, agentes humectantes aceptables, lubricantes de tableteo y desintegrantes, en las tabletas y cápsulas para la administración oral. Las preparaciones líquidas para la administración oral pueden encontrarse en la forma de soluciones, emulsiones, suspensiones acuosas o aceitosas, y jarabes. Alternativamente, las preparaciones orales pueden encontrarse en la forma de polvos secos que 40 pueden reconstituirse con agua u otro vehículo líquido adecuado previamente a su utilización. Pueden añadirse aditivos adicionales, tales como agentes de suspensión o emulsionantes, vehículos no acuosos (incluyendo aceites comestibles), conservantes, y saborizantes y colorantes, a las preparaciones líquidas. Las formas de dosificación parenteral pueden prepararse mediante la disolución del compuesto de la invención en un vehículo líquido adecuado y esterilizando por filtración la solución antes de llenar y escalar un vial o ampolla apropiado. Estos son sólo unos cuantos ejemplos de 45 los muchos procedimientos apropiados bien conocidos en la técnica para la preparación de formas de dosificación.

Puede formularse un compuesto de la presente invención en composiciones farmacéuticas utilizando técnicas bien conocidas por los expertos en la materia. Son conocidos en la técnica portadores farmacéuticamente aceptables adecuados, aparte de aquellos indicados en la presente memoria, por ejemplo ver "The Science and Practice of Pharmacy", 50 de Remington, edición 20a, 2000, Lippincott Williams & Wilkins, editores Gennaro, A.R. *et al.*

Aunque resulta posible que un compuesto para la utilización en el tratamiento pueda, en un uso alternativo, administrarse en forma de compuesto químico crudo o puro, sin embargo resulta preferible presentar el compuesto o "ingrediente activo" en forma de formulación farmacéutica o composición que comprende adicionalmente un portador farmacéuticamente aceptable. Por lo tanto, un aspecto de la presente invención abarca composiciones farmacéuticas 55 que comprenden un portador farmacéuticamente aceptable en combinación con por lo menos un compuesto según la Fórmula (I).

La invención proporciona formulaciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de la invención o una sal, hidrato o solvato farmacéuticamente aceptable de las mismas conjuntamente con uno o más portadores farmacéuticamente aceptables para los mismos. El portador o portadores debe ser "aceptable" en el sentido de ser compatible con los demás ingredientes de la formulación y no excesivamente deletéreo para el recipiente de la misma.

Entre las formulaciones farmacéuticas se incluyen aquellas que resultan adecuadas para la administración oral, rectal, nasal, tópica (incluyendo la bucal y sublingual), vaginal o parenteral (incluyendo la intramuscular, la subcutánea y la intravenosa) o en una forma adecuada para la administración mediante inhalación, insuflación o con un parche transdérmico. Los parches transdérmicos liberan un fármaco a una tasa controlada presentando el fármaco para la absorción de una manera eficaz con un mínimo de degradación del fármaco. Típicamente, los parches transdérmicos

cos comprenden una capa de refuerzo impermeable, un único adhesivo sensible a la presión y una capa protectora eliminable con un revestimiento de liberación. Un experto ordinario en la materia entenderá y apreciará las técnicas apropiadas para la preparación de un parche transdérmico eficaz deseado basándose en las necesidades del técnico.

5 Los compuestos de la invención, conjuntamente con un adyuvante, portador o diluyente convencional, pueden prepararse de esta manera en la forma de formulaciones farmacéuticas y dosis unitarias de los mismos, y en esta forma pueden utilizarse como sólidos, tales como tabletas o cápsulas rellenas, o líquidos, tales como soluciones, suspensiones, emulsiones, elixires, geles o cápsulas llenos con los mismos, todos para la utilización oral, en la forma de supositorios para la administración rectal, o en la forma de soluciones inyectables estériles para la utilización parenteral (incluyendo la subcutánea). Estas composiciones farmacéuticas y formas de dosificación unitaria de las mismas pueden comprender ingredientes convencionales en proporciones convencionales, con o sin compuestos activos o principios adicionales, y estas formas de dosificación unitaria pueden contener cualquier cantidad eficaz del ingrediente activo adecuada al intervalo de dosificación diaria pretendido que se utilizará.

15 Para la administración oral, la composición farmacéutica puede encontrarse en la forma de, por ejemplo, una tableta, cápsula, suspensión o líquido. La composición farmacéutica preferentemente se prepara en la forma de una dosis unitaria que contiene una cantidad particular del ingrediente activo. Son ejemplos de estas unidades de dosificación las cápsulas, tabletas, polvos, gránulos o una suspensión, con aditivos convencionales, tales como lactosa, manitol, almidón de maíz o almidón de patata; con ligantes, tales como celulosa cristalina, derivados de celulosa, acacia, almidón de maíz o gelatinas; con desintegrantes, tales como almidón de maíz, almidón de patata o carboximetilcelulosa sódica; y con lubricantes, tales como talco o estearato de magnesio. El ingrediente activo también puede administrarse mediante inyección en forma de composición, en la que puede utilizarse, por ejemplo, solución salina, dextrosa o agua como portador farmacéuticamente aceptable adecuado.

25 Los compuestos de la presente invención o un solvato o derivado fisiológicamente funcional de los mismos pueden utilizarse como ingredientes activos en composiciones farmacéuticas, específicamente como agonistas del receptor RUP25. La expresión “ingrediente activo” se define en el contexto de una “composición farmacéutica” y se refiere a un componente de una composición farmacéutica que proporciona el efecto farmacológico primario, frente a “ingrediente activo”, que generalmente se reconocería como que no proporciona ningún beneficio farmacéutico.

30 La dosis al utilizar los compuestos de la presente invención pueden variar dentro de límites amplios, y tal como es habitual y es conocido para el médico, debe ajustarse a las condiciones individuales en cada caso individual. Dependiendo, por ejemplo, de la naturaleza y severidad de la enfermedad que se trata, de la condición del paciente, del compuesto utilizado o de si se trata un estado de enfermedad aguda o crónica, o de si se administran compuestos 35 activos adicionales además de los compuestos de la presente invención. Entre las dosis representativas de la presente invención se incluyen, aunque sin limitarse a ellas, entre aproximadamente 0,001 mg y aproximadamente 5.000 mg, entre aproximadamente 0,001 y aproximadamente 2.500 mg, entre aproximadamente 0,001 y aproximadamente 1.000 mg, entre 0,001 y aproximadamente 500 mg, entre 0,001 mg y aproximadamente 250 mg, entre aproximadamente 0,001 mg y 100 mg, entre aproximadamente 0,001 mg y aproximadamente 50 mg, y entre aproximadamente 0,001 mg 40 y aproximadamente 25 mg. Pueden administrarse dosis múltiples durante el día, especialmente cuando se considera que resultan necesarias cantidades relativamente grandes, por ejemplo 2, 3 ó 4 dosis. Dependiendo del individuo y según consideren apropiado el médico o cuidador del paciente, puede resultar necesario desviarse hacia arriba o hacia abajo en las dosis indicadas en la presente invención.

45 La cantidad de ingrediente activo, o de sal activa o derivado del mismo, requerida para la utilización en el tratamiento variará no sólo según la sal particular seleccionado, sino también según la vía de administración, la naturaleza de la condición que se trata, y la edad y condición del paciente, y en última instancia se encontrará bajo el criterio del médico o investigador clínico responsable. En general, el experto en la materia entiende cómo extraer datos *in vivo* obtenidos en un sistema modelo a otro, pro ejemplo un modelo animal a un ser humano. Típicamente, los 50 modelos animales incluyen, aunque sin limitarse a ellos, los modelos de diabetes de roedores, tal como se describe en el Ejemplo 1, *infra*; el modelo de ateroesclerosis de ratón, tal como se describe en el Ejemplo 2, *infra*; o el modelo de ateroesclerosis animal *in vivo* tal como se describe en el Ejemplo 5, *infra*. En algunas circunstancias, estas extrapolaciones puede basarse únicamente en el peso del modelo animal en comparación con otro, tal como un mamífero, preferentemente un ser humano, sin embargo, con más frecuencia, estas extrapolaciones no se basan simplemente en 55 diferencias de peso, sino que más bien incorporan una diversidad de factores. Entre los factores representativos se incluyen el tipo, edad, peso, sexo, dieta y condición médica del paciente, la severidad de la enfermedad, la vía de administración, consideraciones farmacológicas, tales como la actividad, eficacia, perfiles farmacocinéticos y toxicológicos del compuesto particular utilizado, si se utiliza un sistema de administración de fármaco, de si se está tratando un estado de enfermedad aguda o crónica o de si se están administrando compuestos activos adicionales además de los 60 compuestos de Fórmula (I) y como parte de una combinación de fármaco. El régimen de dosificación para tratar una condición de enfermedad con los compuestos y/o composiciones de la presente invención se selecciona de acuerdo con una diversidad de factores, tales como aquellos indicados anteriormente. De esta manera, el régimen de dosificación real utilizado puede variar ampliamente y por lo tanto puede apartarse de un régimen de dosificación preferente y un experto en la materia reconocerá que la dosis y régimen de dosificación fuera de estos intervalos típicos puede 65 someterse a ensayo y, en caso apropiado, puede utilizarse en los procedimientos de la presente invención.

La dosis deseada puede presentarse convenientemente en una sola dosis o como dosis divididas administradas a intervalos apropiados, por ejemplo en forma de dos, tres, cuatro o más subdosis al día. La subdosis misma puede divi-

dirse adicionalmente, por ejemplo en varias administraciones discretas espaciadas ampliamente. La dosis diaria puede dividirse, especialmente cuando se administran cantidades relativamente grandes según se considere apropiado, en administraciones de varias partes, por ejemplo 2, 3 ó 4 partes. Si resulta apropiado, dependiendo del comportamiento individual, puede resultar necesario desviarse hacia arriba o hacia abajo de la dosis diaria indicada.

5 Los compuestos de la presente invención pueden administrarse en una amplia diversidad de formas de dosificación oral y parenteral. Resultará evidente a los expertos en la materia que las formas de dosificación siguientes pueden comprender, como componente activo, un compuesto de la invención o una sal farmacéuticamente aceptable de un compuesto de la invención.

10 Para la preparación de las composiciones farmacéuticas a partir de los compuestos de la presente invención, los portadores farmacéuticamente aceptables pueden ser sólidos o líquidos. Entre las preparaciones de forma sólida se incluyen polvos, tabletas, píldoras, cápsulas, comprimidos, supositorios y gránulos dispersables. Un portador sólido puede ser una o más sustancias que también pueden actuar como diluyentes, agentes saborizantes, solubilizantes, lubricantes, agentes de suspensión, ligantes, conservantes, agentes desintegrantes de tableta, o material de encapsulación.

15 En los polvos, el portador es un sólido finamente dividido que se encuentra en una mezcla con el componente activo finalmente dividido.

20 En las tabletas, el componente activo se encuentra mezclado con el portador con la capacidad de unión necesaria en proporciones adecuadas y compactado en la forma y tamaño deseados.

25 Los polvos y tabletas pueden contener cantidades en porcentaje variables del compuesto activo. Una cantidad representativa en unos polvos o en una tableta puede contener entre 0,5 y aproximadamente 90 por ciento del compuesto activo; sin embargo, un experto conocerá cuando resultarán necesarias cantidades fuera de este intervalo. Son portadores adecuados para los polvos y las tabletas, carbonato de magnesio, estearato de magnesio, talco, azúcar, lactosa, pectina, dextrina, almidón, gelatina, tragacanto, metilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica, cera de bajo punto de fusión, manteca de cacao, y similares. El término "preparación" pretende incluir la formulación del compuesto activo con material de encapsulación como portador que proporciona una cápsula en la que el componente activo, con o sin portadores, se encuentra rodeado por un portador, que de esta manera se encuentra asociado con el mismo. De manera similar, se incluyen comprimidos y pastillas. Pueden utilizarse como formas sólidas adecuadas para la administración oral, tabletas, polvos, cápsulas, píldoras, comprimidos y pastillas.

30 Para la preparación de supositorios, en primer lugar se funde una cera de bajo punto de fusión, tal como una mezcla de glicéridos de ácido graso o manteca de cacao, y se dispersa homogéneamente en el mismo el componente activo, por ejemplo mezclando. A continuación, la mezcla homogénea fundida se vierte en moldes de tamaño conveniente, se deja enfriar, y de esta manera que solidifique.

35 Pueden presentarse formulaciones adecuadas para la administración vaginal, tales como pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o pulverizaciones que contienen además del ingrediente activo, portadores conocidos en la técnica como apropiados.

40 Entre las preparaciones en forma líquida se incluyen soluciones, suspensiones y emulsiones, por ejemplo soluciones en agua o en agua-propilenglicol. Por ejemplo, pueden formularse preparaciones líquidas para inyección parenteral como soluciones en solución acuosa de polietilenglicol. Pueden formularse preparaciones inyectables, por ejemplo suspensiones acuosas u oleaginosas inyectables estériles pueden formularse de acuerdo con la técnica conocida utilizando agentes dispersantes o humectantes adecuados y agentes de suspensión. La preparación inyectable estéril también puede ser una solución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o solvente parenteralmente aceptable no tóxico, por ejemplo como solución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y solventes aceptables que pueden utilizarse se encuentran agua, solución de Ringer, y solución isotónica de cloruro sódico. Además, convencionalmente se utilizan aceites fijos estériles, incluyendo monoglicéridos o diglicéridos. Además, algunos ácidos grasos, tales como el ácido oleico, resultan útiles en la preparación de inyectables.

45 Los compuestos de acuerdo a la presente invención pueden formularse de esta manera para la administración parenteral (por ejemplo mediante inyección, por ejemplo inyección de bolo o infusión continua) y pueden presentarse en forma de dosis unitaria en ampollas, jeringas pre-rellenas, infusión de volumen reducido o en recipientes multidosis con un conservante añadido. Las composiciones pueden adoptar formas tales como suspensiones, soluciones o emulsiones en vehículos aceitosos o acuosos, y pueden contener agentes de formulación, tales como agentes de suspensión, estabilizantes y/o dispersantes. Alternativamente, el ingrediente activo puede encontrarse en forma de polvos, obtenerse mediante aislamiento aséptico de sólido estéril o mediante liofilización de una solución, para su constitución con un vehículo adecuado, por ejemplo agua estéril libre de pirógenos, previamente a la utilización.

50 Las soluciones acuosas adecuadas para la utilización oral pueden prepararse mediante la disolución del componente activo en agua y añadiendo colorantes, saborizantes, agentes estabilizantes y espesantes adecuados, según se deseé.

55 Las suspensiones acuosas adecuadas para la utilización oral pueden prepararse dispersando el componente activo finamente dividido en agua con material viscoso, tal como gomas naturales o sintéticas, resinas, metilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica, u otros agentes de suspensión bien conocidos.

También se incluyen preparaciones de formas sólidas que están destinadas a convertirse, poco antes de su utilización, en preparaciones de forma líquida para la administración oral. Entre estas formas líquidas se incluyen soluciones, suspensiones y emulsiones. Estas preparaciones pueden contener, además del componente activo, colorantes, saborizantes, estabilizantes, tampones, edulcorantes artificiales y naturales, dispersantes, espesantes, agentes solubilizantes, y similares.

Para la administración tópica en la epidermis, los compuestos de acuerdo con la invención pueden formularse en forma de pomadas, cremas o lociones, o en forma de un parche transdérmico.

Las pomadas y cremas pueden formularse, por ejemplo, con una base acuosa o aceitosa con la adición de agentes espesantes y/o gelificantes adecuados. Pueden formularse lociones con una base acuosa o aceitosa y en general también contienen uno o más agentes emulsionantes, agentes estabilizantes, agentes dispersantes, agentes de suspensión, agentes espesantes, o agentes colorantes.

Las formulaciones adecuadas para la administración tópica en la boca incluyen pastillas que comprenden agente activo en una base saborizada, habitualmente sacarosa y acacia o tragacanto; pastillas que comprenden el agente activo en una base inerte, tal como gelatina y glicerina, o sacarosa y acacia; y lavados bucales que comprenden el ingrediente activo en un portador líquido adecuado.

Las soluciones o suspensiones se aplican directamente a la cavidad nasal mediante medios convencionales, por ejemplo con un cuentagotas, pipeta o pulverizador. Las formulaciones pueden proporcionarse en forma de dosis única o multidosis. En el último caso de un cuentagotas o pipeta, esto puede conseguirse mediante la administración por el paciente de un volumen predeterminado apropiado de la solución o suspensión. En el caso de un pulverizador, esto puede conseguirse por ejemplo por medio de una bomba dosificadora de pulverización-atomización.

La administración en el tracto respiratorio también puede conseguirse por medio de una formulación de aerosol en la que se proporciona el ingrediente activo en un paquete presurizado con un propelente adecuado. Si los compuestos de Fórmula (I) o las composiciones farmacéuticas que los comprenden se administran en forma de aerosoles, por ejemplo en forma de aerosoles nasales o mediante inhalación, esto puede llevarse a cabo, por ejemplo, utilizando un pulverizador, un nebulizador, una bomba nebulizadora, un aparato de inhalación, un inhalador dosificador o un inhalador de polvos secos. Las formas farmacéuticas para la administración de los compuestos de Fórmula (I) en forma de aerosol pueden prepararse mediante procedimientos bien conocidos para el experto en la materia. Para su preparación, por ejemplo, pueden utilizarse soluciones o dispersiones de los compuestos de Fórmula (I) en agua, mezclas de agua/alcohol o soluciones salinas adecuadas utilizando aditivos habituales, por ejemplo alcohol bencílico u otros conservantes adecuados, potenciadores de absorción para incrementar la biodisponibilidad, solubilizantes, dispersantes y otros, y si resulta apropiado, propelentes habituales, por ejemplo dióxido de carbono, CFCs, tales como diclorofluorometano, triclorofluorometano o diclorotetrafluoroetano y similares. El aerosol también puede contener convenientemente un surfactante, tal como la lecitina. La dosis de fármaco puede controlarse mediante la provisión de una válvula dosificadora.

En las formulaciones destinadas a la administración en el tracto respiratorio, incluyendo las formulaciones intranasales, el compuesto generalmente presenta un tamaño de partícula reducido, por ejemplo del orden de 10 micrómetros o menos. Este tamaño de partícula puede obtenerse por medios conocidos en la técnica, por ejemplo mediante micronización. Cuando se deseé, pueden utilizarse formulaciones adaptadas para proporcionar una liberación sostenida del ingrediente activo.

Alternativamente, los ingredientes activos pueden proporcionarse en la forma de polvos secos, por ejemplo una mezcla de polvos del compuesto en una base de polvos adecuada, tal como lactosa, almidón, derivados del almidón, tales como hidroxipropilmetylcelulosa y polivinilpirrolidona (PVP). Convenientemente, el portador en polvo forma un gel en la cavidad nasal. La composición de polvos puede presentarse en forma de dosis unitaria, por ejemplo en cápsulas o en cartuchos de, por ejemplo, gelatina o paquetes blíster desde los que pueden administrarse los polvos por medio de un inhalador.

Las preparaciones farmacéuticas preferentemente se presentan en formas de dosificación unitaria. En esta forma, la preparación se subdivide en dosis unitarias que contienen cantidades apropiadas del componente activo. La forma de dosificación unitaria puede ser una preparación empaquetada, conteniendo el paquete cantidades discretas de preparación, tal como tabletas empaquetadas, cápsulas y polvos en viales o en ampollas. Además, la forma de dosificación unitaria puede ser ella misma una cápsula, tableta, comprimido o pastilla, o puede ser el número apropiado de cualquiera de ellos en forma empaquetada.

Las tabletas o cápsulas para la administración oral y los líquidos para la administración intravenosa son composiciones preferentes.

Los compuestos de la presente invención pueden convertirse en "profármacos". El término "profármaco" se refiere a los compuestos que han sido modificados con grupos químicos específicos conocidos en la técnica y que, cuando se administran en un individuo, estos grupos experimentan una biotransformación, produciendo el compuesto parental. De esta manera, los profármacos pueden considerarse compuestos de la invención que contienen uno o más grupos protectores no tóxicos especializados utilizados de manera transitoria para alterar o para eliminar una propiedad del

compuesto. En general, el enfoque de “profármaco” se utiliza para facilitar la absorción oral. Se proporciona un comentario exhaustivo en T. Higuchi y V. Stella, “Pro-drugs as Novel Delivery Systems”, vol. 14 del A.C.S. Symposium Series, y en “Bioreversible Carriers in Drug Design”, editor Edward B. Roche, American Pharmaceutical Association y Pergamon Press, 1987, incorporándose ambos en la presente invención como referencias en su totalidad.

5

Terapia de combinación

Aunque los compuestos de la presente invención pueden administrarse como único agente farmacéutico activo (es decir, como monoterapia), también pueden utilizarse en combinación con otros agentes farmacéuticos (es decir, en terapia de combinación), tal como para el tratamiento de las enfermedades/condiciones/trastornos indicados en la presente memoria. Por lo tanto, también se describe en la presente invención procedimientos de tratamiento de enfermedades relacionadas con el metabolismo que comprenden administrar a un individuo que necesita de dicho tratamiento una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la presente invención en combinación con uno o más agentes farmacéuticos adicionales tal como se describe en la presente invención.

15

Entre los agentes farmacéuticos adecuados que pueden utilizarse en combinación con los compuestos de la presente invención se incluyen los agentes antiobesidad, tales como inhibidores de la secreción de apolipoproteína B/proteína de transferencia de triglicérido microsómico (apo-B/MTP), agonistas de MCR-4, agonistas de la colescistoquinina-A (CCK-A), inhibidores de la recaptación de la serotonina y de la norepinefrina (por ejemplo la sibutramina), agentes simpatomiméticos, agonistas de receptores β_3 -adrenérgicos, agonistas de la dopamina (por ejemplo la bromocriptina), análogos del receptor de la hormona estimulante de los melanocitos, antagonistas del receptor canabinoide 1 (por ejemplo SR 141716: N-(piperidin-1-il)-5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4-metil-1H-pirazol-3-carboxamida, antagonistas de la hormona concentradora de la melanina, leptonas (la proteína OB), análogos de la leptina, agonistas del receptor de la leptina, antagonistas de la galanina, inhibidores de la lipasa (tal como tetrahidrolipstatina, es decir orlistat), agentes anorécticos (tales como un agonista de la bombesina), antagonistas del neuropéptido Y, agentes tiromiméticos, deshidroepiandrosterona o un análogo de la misma, agonistas o antagonistas del receptor glucocorticoide, antagonistas del receptor de la orexina, antagonistas de la proteína de unión a urocortina, agonistas del receptor del péptido 1 similar al glucagón, factores neurotróficos ciliares (tales como Axokine™, disponible de Regeneron Pharmaceuticals, Inc., Tarrytown, NY y de Procter & Gamble Company, Cincinnati, OH), proteína humana relacionada con el agutí (AGRP), antagonistas del receptor de la grelina, antagonistas o agonistas inversos del receptor 3 de la histamina, agonistas del receptor U de la neuromedina, agentes anorécticos noradrenérgicos (por ejemplo fentemina, mazindol y similares) y supresores del apetito (por ejemplo bupropión).

35

Otros agentes antiobesidad, incluyendo los agentes indicados *infra*, son bien conocidos, o resultarán fácilmente evidentes a la luz de la exposición de la invención, para el experto ordinario en la materia.

En algunas realizaciones, los agentes antiobesidad se seleccionan de entre el grupo que consiste en orlistat, sibutramina, bromocriptina, efedrina, leptina y pseudoefedrina. En una realización adicional, los compuestos de la presente invención y las terapias de combinación se administran conjuntamente con ejercicio y/o una dieta sensata.

40

Se entiende que el alcance de la terapia de combinación de los compuestos de la presente invención con otros agentes antiobesidad, agentes anorécticos, supresores del apetito y agentes relacionados, no se encuentra limitada a los indicados anteriormente, sino que en principio incluye cualquier combinación con cualquier agente o composición farmacéutica que resulte útil para el tratamiento de los individuos con sobrepeso u obesos.

45

Entre otros agentes farmacéuticos adecuados, además de los agentes antiobesidad, que pueden utilizarse en combinación con los compuestos de la presente invención se incluyen los agentes útiles en el tratamiento de trastornos concomitantes. El tratamiento de estos trastornos incluye la utilización de uno o más agentes farmacéuticos conocidos en la técnica que pertenecen a las clases de fármacos relacionadas, aunque sin limitación, con las siguientes: sulfonilureas, meglitinidas, biguanidas, inhibidores de la α -glucosidasa, agonistas de los agonistas del receptor del proliferador activado de peroxisomas- γ (es decir, PPAR- γ), insulina, análogos de la insulina, inhibidores de la HMG-CoA reduktasa, fármacos reductores del colesterol (por ejemplo fibratos, incluyendo: fenofibratos, benzafibratos, gemfibrozil, clofibratos, y similares; secuestradores de ácidos biliares, incluyendo: colestiramina, colestipol y similares; y niacina), agentes antiplaquetarios (por ejemplo aspirina y antagonistas del receptor de la adenosina difosfato, incluyendo: clopidogrel, ticlopidina y similares), inhibidores del enzima conversor de la angiotensina, antagonistas del receptor de la angiotensina II y adiponectina. De acuerdo con un aspecto de la presente invención, puede utilizarse un compuesto de la presente invención en combinación con un agente o agentes farmacéuticos pertenecientes a uno o más de las clases de fármacos indicadas en la presente memoria.

60

Se entiende que el alcance de la terapia de combinación de los compuestos de la presente invención con otros agentes farmacéuticos no se encuentra limitada a aquellos indicados en la presente invención, *supra e infra*, aunque incluye en principio cualquier combinación con cualquier agente farmacéutico o composición farmacéutica útil para el tratamiento de enfermedades, condiciones o trastornos que se encuentran relacionados con los trastornos relacionados con el metabolismo.

65

También se describen en la presente memoria procedimientos de tratamiento de una enfermedad, trastorno o condición tales como las indicadas en la presente invención que comprenden administrar a un individuo que necesita de dicho tratamiento una cantidad o dosis terapéuticamente eficaz de un compuesto de la presente invención en combina-

ción con por lo menos un agente farmacéutico seleccionado de entre el grupo que consiste en: sulfonilureas, meglitinidas, biguanidas, inhibidores de la α -glucosidasa, agonistas de proliferadores de peroxisoma-receptor γ activado (es decir, PPAR- γ), insulina, análogos de insulina, inhibidores de la HMG-CoA reductasa, fármacos reductores de colesterol (por ejemplo fibratos, incluyendo: fenofibratos, bezafibratos, gemfibrozil, clofibratos y similares; secuestradores 5 de ácidos biliares, incluyendo: colestiramina, colestipol y similares, y niacina), agentes antiplaquetarios (por ejemplo aspirina y antagonistas del receptor de la adenosina difosfato, incluyendo: clopidogrel, ticlopidina y similares), inhibidores del enzima conversor de la angiotensina, antagonistas del receptor de la angiotensina II, y adiponectina. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende además uno o más agentes seleccionados de entre el 10 grupo que consiste en inhibidor de la α -glucosidasa, inhibidor de la aldosa reductasa, biguanida, inhibidor de la HMG-CoA reductasa, inhibidor de la síntesis de escualeno, fibratos, intensificador del catabolismo de LDL, inhibidor del enzima conversor de la angiotensina, potenciador de la secreción de insulina y tiazolidinodiona.

Un aspecto de la presente invención abarca las composiciones farmacéuticas que comprenden por lo menos un compuesto de acuerdo con la Fórmula (I), tal como se describe en la presente invención. En algunas realizaciones, 15 la composición farmacéutica comprende además uno o más agentes seleccionados de entre el grupo que consiste en, por ejemplo, inhibidor de la α -glucosidasa, inhibidor de la aldosa reductasa, biguanida, inhibidor de la HMG-CoA reductasa, inhibidor de la síntesis de escualeno, fibratos, potenciador del catabolismo de LDL, inhibidor del enzima conversor de angiotensina, potenciador de la secreción de insulina y tiazolidinodiona.

Entre los agentes farmacéuticos adecuados que pueden utilizarse conjuntamente con los compuestos de la presente invención se incluyen los inhibidores de la α -glucosidasa. Los inhibidores de la α -glucosidasa pertenecen a la clase de fármacos que inhiben competitivamente enzimas digestivos tales como la α -amilasa, maltasa, α -dextrinasa, sucrasa, etc. en el páncreas y/o en el intestino delgado. La inhibición reversible por los inhibidores de la α -glucosidasa retrasan, disminuyen o reducen los niveles sanguíneos de glucosa mediante el enlentecimiento de la digestión del almidón y 25 los azúcares. Entre algunos ejemplos representativos de inhibidores de la α -glucosidasa se incluyen acarbosa, N-(1,3-dihidroxi-2-propil)valiolamina (nombre genérico: voglibosa), miglitol, e inhibidores de la α -glucosidasa conocidos de la técnica.

Entre los agentes farmacéuticos adecuados que pueden utilizarse conjuntamente con compuestos de la presente invención se incluyen las sulfonilureas. Las sulfonilureas (SU) son fármacos que estimulan la secreción de la insulina desde las células β pancreáticas mediante la transmisión de señales de secreción de insulina a través de receptores de SU en las membranas celulares. Entre los ejemplos de sulfonilureas se incluyen glibúrido, glipizida, glimepiridia y otras sulfonilureas conocidas de la técnica.

Entre los agentes farmacéuticos adecuados que pueden utilizarse conjuntamente con los compuestos de la presente invención se incluyen las meglitinidas. Las meglitinidas son derivados del ácido benzoico, representando una nueva clase de secretagogos de insulina. Estos agentes se centran en la hiperglicemia postprandial y muestran una eficacia comparable a las sulfonilureas en la reducción de HbA1c. Entre los ejemplos de meglitinidas se incluyen repaglinida, nateglinida y otras meglitinidas conocidas de la técnica.

Entre los agentes farmacéuticos que pueden utilizarse conjuntamente con compuestos de la presente invención se incluyen las biguanidas. Las biguanidas representan una clase de fármacos que estimulan la glucólisis anaeróbica, incrementan la sensibilidad a la insulina en los tejidos periféricos, inhiben la absorción de la glucosa en el intestino, suprimen la gluconeogénesis hepática e inhiben la oxidación de los ácidos grasos. Entre los ejemplos de biguanidas se incluyen fenformina, metformina, buformina y biguanidas conocidas de la técnica.

Entre los agentes farmacéuticos adecuados que pueden utilizarse conjuntamente con compuestos de la presente invención se incluyen los inhibidores de la α -glucosidasa. Los inhibidores de la α -glucosidasa inhiben competitivamente enzimas digestivos, tales como la α -amilasa, maltasa, α -dextrinasa, sucrasa, etc. en el páncreas y/o en el intestino delgado. La inhibición reversible por inhibidores de la α -glucosidasa retrasan, disminuyen o reducen los niveles sanguíneos de glucosa mediante el enlentecimiento de la digestión del almidón y de los azúcares. Entre los ejemplos de inhibidores de la α -glucosidasa se incluyen acarbosa, N-(1,3-dihidroxi-2-propil)valiolamina (nombre genérico: voglibosa), miglitol e inhibidores de α -glucosidasa conocidos de la técnica.

Entre los agentes farmacéuticos adecuados que pueden utilizarse conjuntamente con compuestos de la presente invención se incluyen los agonistas del receptor del proliferador activado de peroxisomas- γ (es decir PPAR- γ). Los agonistas del receptor del proliferador activado de peroxisomas- γ representan una clase de compuestos que activan el receptor nuclear PPAR- γ regulando de esta manera la transcripción de los genes sensibles a la insulina implicados en el control de la producción, transporte y utilización de la glucosa. Los agentes en esta clase también facilitan la regulación del metabolismo de los ácidos grasos. Entre los ejemplos de agonistas de PPAR- γ se incluyen rosiglitazona, pioglitazona, tesagliptazar, netagliptazona, GW-409544, GW-501516 los agonistas PPAR- γ conocidos de la técnica.

Entre los agentes farmacéuticos adecuados que pueden utilizarse conjuntamente con compuestos de la presente invención se incluyen los inhibidores de la HMG-CoA reductasa. Los inhibidores de la HMG-CoA reductasa son agentes 65 también denominados compuestos estatina que pertenecen a una clase de fármacos que reducen los niveles sanguíneos de colesterol mediante la inhibición de la hidroximetilglutarylCoA (HMG-CoA) reductasa. La HMG-CoA reductasa es el enzima limitador de tasa en la biosíntesis del colesterol. Las estatinas reducen las concentraciones séricas de LDL mediante la regulación positiva de la actividad de los receptores de LDL y son responsables de eliminar los LDL de

la sangre. Entre algunos ejemplos representativos de compuestos estatina se incluyen rosuvastatina, pravastatina y su sal sódica, simvastatina, lovastatina, atorvastatina, fluvastatina, cerivastatina, pitavastatina, la “superstatina” de BMS y los inhibidores de la HMG-CoA reductasa conocidos de la técnica.

5 Entre los agentes farmacéuticos adecuados que pueden utilizarse conjuntamente con compuestos de la presente invención se incluyen los inhibidores del enzima conversor de la angiotensina (ACE). Los inhibidores del enzima conversor de la angiotensina pertenecen a la clase de fármacos que reducen parcialmente los niveles sanguíneos de glucosa, así como reducen la presión sanguínea mediante la inhibición de los enzimas conversores de la angiotensina. Entre los ejemplos de los inhibidores del enzima conversor de la angiotensina se incluyen captopril, enalapril, alacepril, 10 delapril, ramipril, lisinopril, imidapril, benazepril, ceronapril, cilazapril, enalaprilat, fosinopril, moveltopril, perindopril, quinapril, spirapril, temocapril, trandolapril e inhibidores del enzima conversor de la angiotensina conocidos de la técnica.

15 Entre los agentes farmacéuticos adecuados que pueden utilizarse conjuntamente con compuestos de la presente invención se incluyen los antagonistas del receptor de la angiotensina II. Los antagonistas del receptor de la angiotensina II reconocen el subtipo I de receptor de la angiotensina II (es decir ATI) y muestran un efecto beneficioso sobre la hipertensión. Entre los ejemplos de antagonistas del receptor de la angiotensina II se incluyen el losartán (y la forma sal potásica) y los antagonistas de receptor de la angiotensina II conocidos de la técnica.

20 Entre otros tratamientos para una o más de las enfermedades indicadas en la presente invención se incluyen la utilización de uno o más agentes farmacéuticos conocidos en la técnica que pertenecen a las clases de fármacos relacionados, aunque sin limitación, con los siguientes: agonistas de amilina (por ejemplo la pramlintida), secretagogos de insulina (por ejemplo agonistas de GLP-1, exendina 4, insulinotropina (NN221 1), inhibidores de dipeptil peptidasa (por ejemplo NVP-DPP-728), inhibidores de la acilCoA colesterol acetiltransferasa (por ejemplo ezetimibe, efflucimibe y compuestos similares), inhibidores de la absorción del colesterol (por ejemplo ezetimibe, pamaqueside y compuestos similares), proteínas inhibidoras de la transferencia de éster de colesterol (por ejemplo CP-529414, JTT-705, CETi-1, torcetrapib y compuestos similares), proteínas inhibidoras de la transferencia de triglicéridos microsómicos (por ejemplo implitapide y compuestos similares), moduladores del colesterol (por ejemplo NO-1886 y compuestos similares), moduladores de los ácidos biliares (por ejemplo GT103-279 y compuestos similares) e inhibidores de la escualeno sintasa.

30 Los inhibidores de la síntesis de escualeno pertenecen a una clase de fármacos que reducen los niveles sanguíneos de colesterol mediante la inhibición de la síntesis del escualeno. Entre los ejemplos de inhibidores de la síntesis del escualeno se incluyen el ácido (S)- α -[bis(2,2-dimetil-1-oxopropoxi)metoxi]fosfinil]-3-enoxibencenobutanosulfónico, sal monopotásica (BMS-188494) y los inhibidores de la síntesis del escualeno conocidos de la técnica.

35 Tal como se describe en la presente memoria, la combinación puede utilizarse mediante la mezcla de los componentes activos respectivos, sea todos juntos o sea independientemente con un portador, excipiente, ligante, diluyente, etc. farmacéuticamente aceptable, tal como se ha descrito anteriormente en la presente memoria, y la administración 40 de la mezcla o mezclas oralmente o no oralmente en forma de composición farmacéutica. Cuando se administra un compuesto o una mezcla de compuestos de Fórmula (I) como terapia de combinación con otro compuesto activo, los agentes terapéuticos pueden formularse como composiciones farmacéuticas separadas que se administran simultáneamente o en tiempos diferentes, o los agentes terapéuticos pueden administrarse en forma de composición única.

45 Tal como se describe en la presente memoria, la combinación de un compuesto de la presente invención y agente farmacéutico puede prepararse mediante la mezcla de los componentes activos respectivos sea todos juntos o sea independientemente con un portador, excipiente, ligante, diluyente, etc. farmacéuticamente aceptable, tal como se describe en la presente memoria, y la administración de la mezcla o mezclas oralmente o no oralmente como composición farmacéutica. Cuando se administra un compuesto o una mezcla de compuestos de Fórmula (I) como terapia 50 de combinación con otro compuesto activo, los agentes terapéuticos pueden formularse como composiciones farmacéuticas separadas que se administran simultáneamente o en tiempos diferentes, o los agentes terapéuticos pueden administrarse en forma de composición única.

Compuestos marcados y procedimientos de ensayo

55 Otro objetivo de la presente invención se refiere a compuestos marcados radioactivamente de Fórmula (I) que resultan útiles no sólo en la formación de imágenes radiográficas, sino también en ensayos, tanto *in vitro* como *in vivo*, para localizar y cuantificar RUP25 en muestras de tejido, incluyendo las humanas, y para identificar los ligandos de RUP25 mediante la unión inhibidora de un compuesto marcado radioactivamente. Es un objetivo adicional de la 60 presente invención incluir nuevos ensayos de RUP25 que comprenden estos compuestos marcados radioactivamente.

La presente invención abarca compuestos marcados isotópicamente de Fórmula (I) y cualquier subgénero de la 65 presente invención, tales como, aunque sin limitarse a ellas, las Fórmulas (Ia) a (Iz), y (IIa) a (IId). Los compuestos “marcados isotópicamente” o “marcados radioactivamente” son aquellos que son idénticos a los compuestos dados a conocer en la presente invención, excepto por el hecho de que uno o más átomos han sido reemplazados o sustituidos por un átomo que presenta una masa atómica o número de masa diferente de la masa atómica o número de masa que se encuentra típicamente en la naturaleza (es decir, de origen natural). Entre los radionucleidos adecuados que pueden incorporarse en los compuestos de la presente invención se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, ^2H (también

denominado "D", deuterio), ³H (también denominado "T", tritio), ¹¹C, ¹³C, ¹⁴C, ¹³N, ¹⁵N, ¹⁵O, ¹⁷O, ¹⁸O, ¹⁸F, ³⁵S, ³⁶Cl, ⁸²Br, ⁷⁵Br, ⁷⁶Br, ⁷⁷Br, ¹²³I, ¹²⁵I y ¹³¹I. El radionucleido que se incorpora en los compuestos marcados radioactivamente dependerá de la aplicación específica del compuesto marcado radioactivamente. Por ejemplo, para los ensayos de marcaje y competición *in vitro* de RUP25, los compuestos que incorporan ³H, ¹⁴C, ⁸²Br, ¹²⁵I, ¹³¹I, ³⁵S resultarán más útiles generalmente. Para las aplicaciones de formación de imágenes radiográficas, generalmente resultarán más útiles ¹¹C, ¹⁸F, ¹²⁵I, ¹²³I, ¹²⁴I, ⁷⁵Br, ⁷⁶Br o ⁷⁷Br.

Se entiende que un "compuesto marcado radioactivamente" o un "compuesto marcado" es un compuesto de Fórmula (I) que ha incorporado por lo menos un radionucleido; en algunas realizaciones el radionucleido se selecciona de entre el grupo que consiste en ³H, ¹⁴C, ¹²⁵I, ³⁵S y ⁸²Br.

Determinados compuestos marcados isotópicamente de la presente invención resultan útiles en ensayos de distribución de compuesto y/o de tejido sustrato. En algunas realizaciones, los radionucleidos isótopos ³H y/o ¹⁴C resultan útiles en estos estudios. Además, la sustitución con isótopos más pesados, tales como el deuterio (es decir 2H) puede proporcionar determinadas ventajas terapéuticas, resultando de una estabilidad metabólica más elevada (por ejemplo una vida media *in vivo* incrementada o requisitos de dosis reducidos) y por lo tanto pueden resultar preferentes en algunas circunstancias. Los compuestos marcados isotópicamente de la presente invención pueden prepararse generalmente siguiendo procedimientos análogos a aquellos dados a conocer en los Esquemas *supra* y en los Ejemplos *infra* mediante la sustitución de un reactivo marcado isotópicamente por un reactivo no marcado isotópicamente. Otros procedimientos de síntesis que resultan útiles se comentan *infra*. Además, debe entenderse que todos los átomos representados en los compuestos de la invención pueden ser el isótopo más común de los átomos o el isótopo radioactivo o no radioactivo más escaso.

Los procedimientos de síntesis para incorporar isótopos radioactivos en compuestos orgánicos resultan aplicables a compuestos de la invención y son bien conocidos de la técnica. Estos procedimientos de síntesis, por ejemplo, que incorporan niveles de actividad de tritio en las moléculas diana, son los siguientes:

A. Reducción catalítica con gas tritio: este procedimiento normalmente rinde productos de elevada actividad específica y requiere precursores halogenados o insaturados.

B. Reducción con borohidruro-[³H] sódico: este procedimiento es bastante económico y requiere precursores que contienen grupos funcionales reducibles, tales como aldehídos, cetonas, lactonas, ésteres y similares.

C. Reducción con hidruro-[³H] de litio-aluminio: este procedimiento ofrece productos con actividades específicas casi teóricas. También requiere precursores que contienen grupos funcionales reducibles, tales como aldehídos, cetonas, lactonas, ésteres y similares.

D. Marcaje por exposición a gas tritio: este procedimiento implica exponer los precursores que contienen protones intercambiables a gas tritio en presencia de un catalizador adecuado.

E. N-metilación utilizando yoduro-[³H] de metilo: este procedimiento habitualmente se utiliza para la preparación de productos (³H) O-metil o N-metilo mediante el tratamiento de los precursores apropiado con yoduro-[³H] de metilo de elevada actividad específica. Este procedimiento en general permite una actividad específica más alta, tal como por ejemplo aproximadamente 70 a 90 Ci/mmol.

Entre los procedimientos de síntesis para incorporar niveles de actividad elevados de ¹²⁵I en las moléculas diana se incluyen:

A. Reacciones de Sandmeyer y similares: este procedimiento transforma una arilamina o heteroarilamina en una sal diazonio, tal como una sal tetrafluoroborato, y después en un compuesto marcado con ¹²⁵I utilizando Na¹²⁵I. Un procedimiento representado ha sido informado por Zhu, D.-G. y colaboradores en J. Org. Chem. 67:943-948, 2002.

B. Orto-¹²⁵yodación de fenoles: este procedimiento permite la incorporación de ¹²⁵I en la posición orto de un fenol, tal como informan Collier, T.L. y colaboradores en J. Labeled Compd. Radiopharm. 42:S264-S266, 1999.

C. Intercambio de bromuro de arilo y de heteroarilo con ¹²⁵I: este procedimiento generalmente se realiza en dos etapas. La primera etapa es la conversión del bromuro de arilo o de heteroarilo en el intermedio tri-alquistina correspondiente utilizando, por ejemplo, una reacción catalizada por Pd [es decir, Pd(Ph₃P)₄] o a través de un aril-litio o heteroaril-litio, en presencia de una tri-alquilestañohaluro o hexaalquildiestáño [por ejemplo (CH₃)₃SnSn(CH₃)₃]. Un procedimiento representado ha sido informado por Bas, M.-D. y colaboradores en J. Labeled Compd. Radiopharm. 44:S280-S282, 2001.

Puede utilizarse un compuesto RUP25 marcado radioactivamente de Fórmula (I) en un ensayo de cribado para identificar/evaluar compuestos. En términos generales, puede evaluarse un compuesto recién sintetizado o identificado (es decir, un compuesto de ensayo) para su capacidad de reducir la unión del "compuesto marcado radioactivamente de Fórmula (I)" al receptor RUP25. Por consiguiente, la capacidad de un compuesto de ensayo de competir con el "compuesto marcado radioactivamente de Fórmula (I)" para la unión al receptor RUP25 se correlaciona directamente con su afinidad de unión.

Los compuestos marcados de la presente invención se unen al receptor RUP25. En una realización, el compuesto marcado presenta una IC₅₀ inferior a aproximadamente 500 μM, en otra realización, el compuesto marcado presenta una IC₅₀ inferior a aproximadamente 100 μM, en todavía otra realización el compuesto marcado presenta una IC₅₀ inferior a aproximadamente 10 μM, en todavía otra realización el compuesto marcado presenta una IC₅₀ inferior a aproximadamente 1 μM, y en todavía otra realización el inhibidor marcado presenta una IC₅₀ inferior a aproximadamente 0,1 μM.

Otros usos de los receptores y procedimientos dados a conocer resultarán evidentes para los expertos en la materia basándose en, *inter alia*, una revisión de la presente exposición.

10

Ejemplos

Los Ejemplos siguientes se proporcionan con fines ilustrativos.

15 Un experto ordinario en la materia sería capaz de diseñar ensayos y procedimientos equivalentes basándose en la exposición en la presente memoria.

Ejemplo

20 Modelos de diabetes en roedores

Se han desarrollado modelos de roedores de la diabetes de tipo 2 asociados con la obesidad y la resistencia a la insulina. Se han desarrollado modelos genéticos, tales como db/db y ob/ob (ver Diabetes 31:1-6, 1982) en ratones y fa/fa en ratas zucker para la comprensión de la fisiopatología de la enfermedad y para someter a ensayo compuestos terapéuticos candidatos (Diabetes 32:830-838, 1983; Annu. Rep. Sankyo Res. Lab. 46:1-57, 1994). Los animales homocigóticos, ratones C57 BL/KsJ-db/db desarrollados por el Jackson Laboratory son obesos, hiperglucémicos, hiperinsulinémicos y resistentes a la insulina (J. Clin. Invest. 85:962-967, 1990), mientras que los heterocigotos son magros y normoglucémicos. En el modelo db/db, los ratones desarrollan progresivamente insulinopenia con la edad, una característica observada comúnmente en las etapas tardías de la diabetes de tipo 2 humana, cuando se produce un control insuficiente de los niveles de azúcar. Debido a que este modelo se asemeja al de la diabetes de tipo 2 humana, los compuestos de la presente invención se someten a ensayo para actividades que incluyen, aunque no se limitan a, la reducción de la glucosa y los triglicéridos plasmáticos. Las ratas zucker (fa/fa) son severamente obesas, hiperinsulinémicas y resistentes a la insulina (Coleman, Diabetes 31:1, 1982; E. Shafir, en Diabetes Mellitus, H. Rifkin y D. Porte, Jr., editores, Elsevier Science Publishing Co., New York, edición 4a, 1990, páginas 299-340), y la mutación fa/fa puede ser el equivalente en la rata de la mutación db murina (Friedman *et al.*, Cell 69:217-220, 1992; Truett *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:7806, 1991). Los ratones tubby (tub/tub) se caracterizan por presentar obesidad, resistencia a la insulina moderada e hiperinsulinemia sin hiperglucemia significativa (Coleman *et al.*, Heredity 81:424, 1990).

40 La presente invención abarca compuestos de la invención para reducir la resistencia a la insulina y la hiperglucemias en cualquiera o en todos los modelos de diabetes en el roedor, en humanos con diabetes de tipo 2 u otros trastornos preferentes relacionados con el metabolismo o trastornos del metabolismo de los lípidos descritos anteriormente, o en modelos basados en otros mamíferos. Se evalúan los niveles plasmáticos de glucosa y de insulina, así como otros factores incluyendo, aunque sin limitarse a ellos, los niveles plasmáticos de ácidos grasos libres y de triglicéridos.

45

Ensayo in vivo de actividad antihiperglucémica de compuestos de la invención

Se albergaron ratones diabéticos obesos genéticamente alterados (db/db) (macho, de 7 a 9 semanas de edad) (7 a 50 9 ratones/jaula) bajo condiciones estándar de laboratorio a 22°C y 50% de humedad relativa, y se mantuvieron bajo una dieta de alimento Purina para roedores y agua *ad libitum*. Previamente al tratamiento, se recogió sangre de la vena de la cola de cada animal y se determinaron las concentraciones sanguíneas de glucosa utilizando un sistema One Touch Basic Glucose Monitor System (Lifescan). Se utilizaron ratones que presentaban niveles plasmáticos de glucosa entre 250 y 500 mg/dl. Cada grupo de tratamiento consistía de siete ratones que se distribuyeron de manera que los niveles medios de glucosa fuesen equivalentes en cada grupo al inicio del estudio; los ratones db/db recibieron dosis utilizando bombas microosmóticas, que se insertaron bajo anestesia con isoflurano, proporcionando los compuestos de la invención, solución salina, o un compuesto irrelevante en los ratones por vía subcutánea (s.c.). A continuación, se muestreó sangre de la vena de la cola a intervalos y se analizó para las concentraciones sanguíneas de glucosa. Se evaluaron diferencias significativas entre grupos (comparando el tratamiento con compuestos de la invención con el tratamiento con solución salina) utilizando la prueba de t de Student.

Ejemplo 2

Modelo de la aterosclerosis de ratón

65

Se ha demostrado que los ratones deficientes en adiponectina generados mediante la eliminación del gen de la adiponectina presentan una predisposición a la aterosclerosis y a ser resistentes a la insulina. Los ratones también son un modelo adecuado para la enfermedad cardíaca isquémica (Matsuda, M. *et al.*, J. Biol. Chem., julio de 2002, y

ES 2 267 077 T3

referencias citadas en la misma, la exposición de las cuales se incorpora en la presente invención como referencias en su totalidad).

- 5 Se alojaron ratones knockout para la adiponectina (7 a 9 ratones/jaula) bajo condiciones de laboratorio estándar
a 22°C y 50% de humedad relativa. Los ratones recibieron dosis utilizando bombas microosmóticas, que se insertaron bajo anestesia con isoflurano, proporcionando compuestos de la invención, solución salina, o un compuesto irrelevante a los ratones por vía subcutánea (s.c.). El engrosamiento neointimal y la enfermedad cardíaca isquémica se determinaron para diferentes grupos de ratones sacrificados en diferentes intervalos de tiempo. Se evaluaron diferentes significativas entre grupos (comprando el tratamiento con compuestos de la invención con el tratamiento con solución 10 salina) utilizando la prueba t de Student.

Ejemplo 3

Actividad biológica in vitro

- 15 Se utilizó un kit modificado de adenilil ciclasa Flash Plate™ (New England Nuclear, nº de cat. SMP004A) para la identificación directa de compuestos candidatos como agonistas de hRUP25 de acuerdo con el protocolo siguiente. El término hRUP25 incluye las secuencias humanas encontradas en el nº de acceso de GenBank NM_177551 para el nucleótido, y nº de acceso de GenBank NP_808219 para el polipéptido, y variantes alélicas naturales, ortólogos de 20 mamífero y mutantes recombinantes de las mismas.

25 Se recolectaron de matraces por medios no enzimáticos células CHO transfectadas establemente con un vector de expresión codificante de hRUP25 y se cultivaron bajo condiciones permisivas para la expresión de superficie celular del receptor hRUP25 codificado. Las células se lavaron en PBS y se resuspendieron en el tampón de ensayo del fabricante. Se contaron las células vivas utilizando un hemocitómetro y exclusión de azul de tripano, y la concentración 30 celular se ajustó a 2×10^6 células/ml. Se prepararon estándares de AMPc y tampón de detección (que comprende 2 μ Ci de trazador [125 I]-AMPC (100 μ l) en 11 ml de tampón de detección) y se mantuvieron de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se añadieron compuestos candidatos identificados tal como anteriormente (si se encontraban congelados, se descongelaron a temperatura ambiente) en sus pocillos respectivos (preferentemente pocillos de una placa de 96 pocillos) a concentraciones crecientes (3 μ l/pocillo, concentración de ensayo final: 12 μ M). A estos pocillos se añadieron 100.000 células en 50 μ l de tampón de ensayo y seguidamente la mezcla se incubó durante 30 minutos a temperatura ambiente, bajo agitación suave. Tras la incubación, se añadieron 100 μ l de tampón de detección a cada pocillo, seguido de la incubación durante 2 a 24 horas. Las placas se contaron en un lector de placas MicroBeta™ de Wallac utilizando "prot. nº 31" (siguiendo las instrucciones del fabricante).

35 Determinados compuestos de la invención presentan una EC₅₀ en el procedimiento de AMPc en células completas de aproximadamente 25 μ M o menos.

Ejemplo 4

Actividad biológica in vitro

Ensayo de unión de 35 S-GTP γ S

- 45 Las membranas preparadas a partir de células (CHO)-K1 de ovario de hámster chino que expresaban establemente el receptor de niacina o el vector de control (7 μ g/ensayo) se diluyeron en tampón de ensayo (HEPES 100 mM, NaCl 100 mM y MgCl₂ 10 mM, pH 7,4) en placas Scintistrip de Wallac y se preincubaron con compuestos de ensayo diluidos en tampón de ensayo que contenía GDP 40 μ M ([GDP] final de 10 μ M) durante ~10 minutos antes de la adición de 50 35 S-GTP γ S hasta 0,3 nM. Para evitar la potencial precipitación de compuestos, todos los compuestos se prepararon en primer lugar en 100% de DMSO y después se diluyeron con tampón de ensayo, resultando en una concentración final de 3% de DMSO en el ensayo. Se dejó que se produjese la unión durante una hora antes de centrifugar las placas a 4.000 rpm durante 15 minutos a temperatura ambiente y contar seguidamente en un contador de centelleo TopCount. Se llevó a cabo un análisis de regresión no lineal de las curvas de unión en GraphPad Prism.

55 Preparación de membranas

Materiales

60	Medio de cultivo de células CHO-K1	Medio de cultivo celular modificado de Kaighn F-12 con FBS al 10%, L-glutamina 2 mM, piruvato sódico 1 mM y 400 μ g/ml de G418
	Tampón de raspado de membranas	HEPES 20 mM EDTA 10 mM, pH 7,4
65	Tampón de lavado de membranas	HEPES 20 mM EDTA 0,1 mM, pH 7,4
	Cóctel inhibidor de proteasas	P-8340 (Sigma, St. Louis, MO)

ES 2 267 077 T3

Procedimiento

- Aspirar el medio de cultivo celular de las placas de 15 cm², enjuagar con 5 ml de PBS frío y aspirar
- 5 ○ Añadir 5 ml de tampón de raspado de membranas y raspar las membranas. Transferir el raspado a un tubo de centrifugación de 50 ml. Añadir 50 µl de cóctel inhibidor de proteasas.
- Centrifugar a 20.000 rpm durante 17 minutos a 4°C.
- 10 ○ Separar por aspiración el sobrenadante y resuspender el pellet en 30 ml de tampón de lavado de membranas.
- Añadir 50 µl de cóctel inhibidor de proteasas.
- 15 ○ Centrifugar a 20.000 rpm durante 17 minutos a 4°C.
- Separar por aspiración el sobrenadante y el pellet de membranas. El pellet puede congelarse a -80°C para su utilización posterior o puede utilizarse inmediatamente.

Ensayo

Materiales

Sal sódica de guanosina 5'-difosfato (GDP, Sigma-Aldrich, nº de catálogo 87127)

25 Sal trietilamonio de guanosina 5'-[γ^{35} S]tiotrifosfato, Amersham Biosciences nº de catálogo SJ1320, ~1.000 Ci/mmol

Placas Scintiplate de 96 pocillos (Perkin-Elmer, nº 1450-501)

30 Tampón de unión: HEPES 20 mM, pH 7,4

NaCl 100 mM

35 MgCl₂ 10 mM

Tampón GDP: tampón de unión más GDP, comprendido entre 0,4 y 40 µM, preparar fresco antes del ensayo.

Procedimiento

40 (volumen total del ensayo = 100 µl/pocillo)

25 µl de tampón GDP con o sin compuestos (GDP final de 10 µM, de manera que se utiliza la solución madre de 40 µM)

45 50 µl de membranas en tampón de unión (0,4 mg de proteína/ml)

25 µl de [35 S]GTPγS en tampón de unión. Se prepara mediante la adición de 5 µl de solución madre de [35 S]GTPγS en 10 ml de tampón de unión (este tampón no presente GDP).

- 50 ○ Descongelar placas de compuesto a cribar (placas hijas con 5 µl de compuesto a una concentración de 2 mM en 100% de DMSO)

- 55 ○ Diluir los compuestos 2 mM a 1:50 con 245 µl de tampón GDP hasta 40 µM en 2% de DMSO. Descongelar el pellet de membranas congelado sobre hielo.

- 60 ○ Homogeneizar las membranas brevemente hasta suspenderlas utilizando POLYTRON PT3100 (sonda PT-DA 3007/2 fija en 7.000 rpm). Determinar la concentración de proteínas membranales mediante el ensayo de Bradford. Diluir las membranas hasta una concentración de proteínas de 0,40 mg/ml en tampón de unión (nota: la concentración de ensayo final es de 20 µg/pocillo).

- Añadir 25 µl de compuestos en tampón GDP por pocillo en la placa de centello.

- Añadir 50 µl de membranas por pocillo de la placa Scintiplate.

- 65 ○ Preincubar durante 5 a 10 minutos a temperatura ambiente.

ES 2 267 077 T3

- Añadir 25 μ l de [³⁵S]GTP γ S diluido. Incubar en un agitador (Lab-Line, modelo nº 1314, agitar con el dial en el nº 4) durante 60 minutos a temperatura ambiente.
- El ensayo se detiene centrifugando las placas selladas con tapas de placa a 2.500 rpm durante 20 minutos a 22°C.
- Leer en contador de centelleo TopCount NXT, protocolo 35S.

Determinados compuestos de la invención presentan una EC₅₀ en el ensayo de unión de GTP γ S funcional *in vitro* comprendida en el intervalo entre aproximadamente 10 y 100 μ M. Algunos compuestos más ventajosos de la invención presentan un valor de EC₅₀ en este ensayo comprendido en el intervalo entre aproximadamente 1 y 10 μ M. Unos compuestos todavía más ventajosos presentan un valor de EC₅₀ inferior a aproximadamente 1 μ M.

Ejemplo 5

Modelo animal in vivo

Una utilidad del compuesto de la presente invención como agente médico en la profilaxis y tratamiento de una proporción elevada de colesterol total/colesterol-HDL y las condiciones relacionadas con la misma se demuestra por la actividad del compuesto en la reducción de la proporción de colesterol total a colesterol-HDL, en la elevación del colesterol-HDL, o en la protección frente a la ateroesclerosis en un modelo de cerdo *in vivo*. Los cerdos se utilizan como modelo animal debido a que refleja la fisiología humana, especialmente el metabolismo de los lípidos, de manera más estrecha que la mayoría de otros modelos animales. En la presente memoria se presenta un modelo de cerdo *in vivo* ilustrativo que no pretender ser limitativo de la invención.

Se alimentaron cerdos albinos Yorkshire (peso corporal: 25,5 ± 4 kg) con una dieta rica en ácidos grasos saturados y en colesterol (SFA-CHO) durante 50 días (1 kg de alimento por 35 kg de peso de cerdo) compuesto de alimento estándar suplementado con 2% de colesterol y 20% de sebo de buey (Royo *et al.*, European Journal of Clinical Investigation 30:843-852, 2000, exposición que se incorpora en la presente memoria como referencia en su totalidad). Se modificó la proporción de ácidos grasos saturados a insaturados de 0,6 en el alimento normal para cerdos a 1,12 en la dieta SFA-CHO. Los animales se dividieron en dos grupos, un grupo (n=8) alimentado con la dieta SFA-CHO y tratado con un placebo, y el otro grupo (n=8) alimentado con la dieta SFA-CHO y tratado con el compuesto (3,0 mg kg⁻¹). Los animales de control se alimentaron con un alimento estándar durante un periodo de 50 días. Se recogieron muestras de sangre en la línea base (2 días después de la recepción de los animales) y 50 días después del inicio de la dieta. Se analizaron los lípidos en sangre. Los animales se sacrificaron y se realizaron necropsias.

Alternativamente, el análisis anterior comprende una pluralidad de grupos, cada uno de los cuales se trata con una dosis diferente del compuesto. Las dosis preferentes de dichas dosis se seleccionan de entre el grupo que consiste en: 0,1 mgkg⁻¹, 0,3 mgkg⁻¹, 1,0 mgkg⁻¹, 3,0 mgkg⁻¹, 10 mgkg⁻¹, 30 mgkg⁻¹ y 100 mgkg⁻¹. Alternativamente, el análisis anterior se lleva a cabo en una pluralidad de puntos del tiempo. Los puntos del tiempo preferentes de entre dichos puntos del tiempo se seleccionan de entre el grupo que consiste en 10 semanas, 20 semanas, 30 semanas, 40 semanas y 50 semanas.

Colesterol-HDL

Se recogió sangre en citrato trisódico (3,8%, 1:10). Se obtuvo plasma tras la centrifugación (1.200 g, 15 minutos) y se procesó inmediatamente. Se midió el colesterol total, el colesterol-HDL, y el colesterol-LDL utilizando el analizador automático Kodak Ektachem DT System (Eastman Kodak Company, Rochester, NY, USA). Las muestras que presentaban valores de parámetro superiores al intervalo se diluyeron con la solución suministrada por el fabricante y después se analizaron nuevamente. Se determinó la proporción de colesterol total-colesterol-HDL. Se realizó una comparación del nivel de colesterol-HDL entre grupos. Se realizó una comparación del nivel de colesterol total/colesterol-HDL entre grupos.

La elevación del colesterol-HDL o la reducción de la proporción de colesterol total/colesterol-HDL al administrar el compuesto se consideró indicativa de que el compuesto presentaba la utilizada anteriormente indicada.

Aterosclerosis

Se extirparon intactas las aortas torácica y abdominal, se abrieron longitudinalmente a lo largo de la superficie ventral, y se fijaron en formalina neutra-tamponada tras la extracción de muestras de sitios estándar en las aortas torácica y abdominal para el examen histológico y estudios de la composición y síntesis de lípidos. Tras la fijación, se tiñeron aortas completas con Sudan IV y se aplazaron con alfileres y se obtuvieron imágenes digitales con una cámara de TV conectada a un sistema de análisis de imágenes computerizadas (Image Pro Plus; Media Cybernetics, Silver Spring, MD) para determinar el porcentaje de superficie aórtica implicada en las lesiones ateroscleróticas (Gerrity, R.G. *et al.*, Diabetes 50:1654-65, 2001; Comhill, J.F. *et al.*, Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology 5:415-26, 1985; las exposiciones de las cuales se incorporan en la presente memoria como referencia en su totalidad. Se realizó una comparación entre grupos del porcentaje de superficie aórtica afectada por lesiones ateroscleróticas.

ES 2 267 077 T3

La reducción del porcentaje de superficie aórtica afectada por lesiones ateroscleróticas tras administrar el compuesto se consideró indicativa de que el compuesto presentaba la utilizada anteriormente indicada.

Ejemplo 6

5

Ensayo de unión de receptores

Además de los procedimientos descritos en la presente memoria, otro medio para evaluar un compuesto de ensayo es mediante la determinación de las afinidades de unión al receptor RUP25. Este tipo de ensayo generalmente requiere 10 un ligando marcado radioactivamente del receptor RUP25. En caso de no utilizar ligandos conocidos para el receptor RUP25 y marcas radioactivos del mismo, pueden marcarse compuestos de Fórmula (I) con un isótopo radioactivo y utilizarse en un ensayo para evaluar la afinidad de un compuesto de ensayo para el receptor RUP25.

Puede utilizarse un compuesto RUP25 de Fórmula (I) marcado radioactivamente en un ensayo de cribado para identificar/evaluar los compuestos. En términos generales, puede evaluarse un compuesto recién sintetizado o identificado (es decir, un compuesto de ensayo) para su capacidad de reducir la unión del “compuesto marcado radioactivamente de Fórmula (I)” al receptor RUP25. Por consiguiente, la capacidad de competir con el “compuesto marcado radioactivamente de Fórmula (I)” o con el ligando de RUP25 marcado radioactivamente para la unión al receptor RUP25 se correlaciona directamente con la afinidad de unión del compuesto de ensayo para el receptor RUP25.

20

Protocolo de ensayo para determinar la unión de receptor para RUP25

A. Preparación de receptor RUP25

25 Se cultivaron en una placa células 293 (riñón humano, ATCC) transfectadas transitoriamente con 10 µg de receptor RUP25 humano y 60 µl de lipofectamina (por placa de 15 cm) durante 24 horas (confluencia del 75%) con un cambio de medio, y se recogieron con 10 ml/placa de tampón HEPES-EDTA (HEPES 20 mM + EDTA 10 mM, pH 7,4). Las células se centrifugaron en una centrífuga Beckman Coulter durante 20 minutos, 17.000 rpm (rotor JA-25.50). Después, se resuspendió el pellet en HEPES 20 mM + EDTA 1 mM, pH 7,4, y se homogeneizaron con un homogeneizador Dounce de 50 ml y se centrifugaron nuevamente. Tras separar el sobrenadante, los pellets se almacenaron a -80°C hasta su utilización en el ensayo de unión. Al utilizarlas en el ensayo de unión, las membranas se descongelaron sobre hielo durante 20 minutos y después se añadieron 10 ml de tampón de incubación (HEPES 20 mM, MgCl₂ 1 mM, NaCl 100 mM, pH 7,4). Las membranas se agitaron con vórtex para resuspender el pellet crudo de membranas y se homogeneizaron con un homogeneizador Brinkmann PT-3100 Polytron durante 15 segundos con el dial en el nº 6. Se 30 35 determinó la concentración de proteína membranal utilizando el ensayo de proteínas Bradford BRL.

B. Ensayo de unión

40 Para el nivel total de unión, se añadió un volumen total de 50 µl de membranas apropiadamente diluidas (diluidas en tampón de ensayo que contenía HCl de Tris 50 mM (pH 7,4), MgCl₂ 10 mM y EDTA 1 mM; 5 a 50 µg de proteína) a placas de microtitulación de polipropileno de 96 pocillos, seguido de la adición de 100 µl de tampón de ensayo y 50 µl de ligando de RUP25 marcado radioactivamente. Para la unión no específica, se añadieron 50 µl de tampón de ensayo en lugar de 100 µl, y se añadieron 50 µl adicionales de RUP25 frío 10 µM antes de la adición de 50 µl de 45 ligando de RUP25 marcado radioactivamente. A continuación, las placas se incubaron a temperatura ambiente durante 60 a 120 minutos. Se terminó la reacción de unión filtrando las placas de ensayo a través de una placa de filtración Unifilter GF/C de Microplate Devices con un recolector de placas de 96 pocillos Brandell, seguido del lavado con HCl de Tris frío 50 mM, pH 7,4, que contenía NaCl al 0,9%. Seguidamente, se selló el fondo de la placa de filtración, se añadieron 50 µl de Optiphase Supermix a cada pocillo, se sellaron las partes superiores de las placas, y las placas 50 se contaron en un contador de centelleo MicroBeta Trilux. Para los estudios de competición de compuestos, en lugar de añadir 100 µl de tampón de ensayo, se añadieron 100 µl de compuesto de ensayo apropiadamente diluido en los pocillos apropiados, seguido de la adición de 50 µl de ligando de RUP25 marcado radioactivamente.

C. Cálculos

55 Los compuestos de ensayo inicialmente se someten a ensayo a 1 y 0,1 µM y después a un intervalo de concentraciones seleccionado de manera que la dosis media causa una inhibición de aproximadamente el 50% de la unión de ligando de RUP25 radioactivo (es decir, una IC₅₀). La unión específica en ausencia del compuesto de ensayo (B₀) es la diferencia entre la unión total (B_T) menos la unión no específica (NSB) y, de manera similar, la unión específica (en presencia del compuesto de ensayo) (B) es la diferencia entre la unión de desplazamiento (B_D) y la unión no específica (NSB). La IC₅₀ se determina a partir de una curva de respuesta de inhibición, un gráfico logit-log de % de B/B₀ frente 60 a concentración de compuesto de ensayo.

Ki se calcula mediante la transformación de Cheng y Prustoff:

65

$$Ki = IC_{50}/(1 + [L]/K_D)$$

en la que $[L]$ es la concentración de un ligando radioactivo de RUP25 utilizado en el ensayo y K_D es la constante de disociación de un ligando radioactivo de RUP25 determinada independientemente bajo las mismas condiciones de unión.

5 D. *Procedimiento alternativo de ensayo de unión*

Ensayo de unión competitiva de ácido 3H-nicotínico.

Se utilizaron células CHO-KI que expresaban establemente el receptor de la niacina para preparar membranas para el análisis de unión. Las células se cultivaron hasta el ~80% de confluencia en medio de cultivo (medio F12 de Kaighn modificado (ATCC nº 30-2004) que contenía FBS al 10% (GIBCO, nº 10438-026), G418 1 mg/ml (GIBCO, nº 10131-027) y Pen-Strep 1X (Sigma, P-0871), se recolectaron mediante raspado, y se centrifugaron a 12.000 X g, 4° Celsius durante 10 minutos, Los pellets celulares se resuspendieron en tampón de recolección (HEPES 20 mM, EDTA 10 mM, pH 7,4) y se homogeneizaron con 4 pulsos de 10 segundos de un homogeneizador Polytron de 12 mm, dial en el nº 15 5. El lisado se centrifugó a 2.000 x g, 4°C, durante 10 minutos para eliminar las células no lisadas y los núcleos, y el sobrenadante resultante se centrifugó a 39.000 X g, 4°C, durante 45 minutos para formar un pellet con las membranas. El pellet resultante se resuspendió en tampón de lavado (HEPES 20 mM, EDTA 0,1 mM, pH 7,4), se homogeneizó con 3 pulsos de 10 segundos de un Polytron de 12 mm, dial en el nº 4, y se centrifugaron nuevamente a 39.000 X g, 20 4°C, durante 45 minutos. El pellet resultante se resuspendió en tampón de lavado y se almacenó en nitrógeno líquido previamente a la utilización. La concentración de proteínas membranales en esta preparación se determinó utilizando el ensayo de proteínas Pierce BCA, utilizando BSA como estándar.

Se llevó a cabo una unión de equilibrio del ácido ^3H -nicotínico en placas de polipropileno de 96 pocillos. Las reacciones contenían 140 μl de membranas diluidas en tampón de ensayo (HEPES 20 mM, pH 7,4, MgCl_2 1 mM y CHAPS al 0,1%; 15 a 30 μg de proteínas membranales/ensayo), 20 μl de compuestos de ensayo diluidos en tampón de ensayo (las soluciones madre de compuesto eran en 100% de DMSO, la concentración final de DMSO en el ensayo era del 0,25%) y 40 μl de niacina tritiada 250 nM (ácido [5,6- ^3H]-nicotínico: American Radiolabeled Chemicals, Inc.; 20 μM en etanol; la concentración final en etanol de cada ensayo era del 1,5%). La unión no específica se determinó en presencia de 250 μM de ácido nicotínico no marcado. Tras mezclar durante 3 a 4 horas a temperatura ambiente, 30 las reacciones se filtraron a través de placas Unifilter GF/C Packard utilizando un recolector Packard, y se lavaron con 8 x 200 μl de tampón de unión helado. Las placas se secaron durante la noche y se sellaron los fondos utilizando cinta Perkin Elmer diseñada para placas GF/C. Se añadieron 40 μl de líquido de centelleo Microscint-20 de Perkin Elmer a cada pocillo, se sellaron las partes superiores, y las placas se analizaron en un contador de centelleo Packard TopCount.

35 Los cálculos se llevaron a cabo tal como en C, anteriormente.

Determinados compuestos de la invención presentan una EC_{50} en el ensayo de competición de unión de ácido ^3H -nicotínico comprendida en el intervalo entre aproximadamente 10 y aproximadamente 100 μM . Los compuestos más 40 ventajosos de la invención presentan un valor de EC_{50} en este ensayo comprendido en el intervalo entre aproximadamente 1 y aproximadamente 10 μM . Los compuestos que resultan todavía más ventajosos presentan un valor de EC_{50} en este ensayo inferior a aproximadamente 1 μM .

Ejemplo 7

45 *Lavado mediante láser Doppler*

Procedimiento: se anestesieron ratones macho C57Bl6 (~25 g) utilizando 10 mg/ml/kg de nembutal sódico. Al administrar antagonistas, estos se coinyectaron con la anestesia de nembutal. Tras diez minutos, el animal se situó 50 bajo el láser y se dobló hacia atrás una oreja para exponer el lado ventral. El láser se posicionó en el centro de la oreja y se enfocó a una intensidad de 8,4-9,0 V (generalmente ~4,5 cm por encima de la oreja). La adquisición de datos se inició con un formato de imagen de 15 por 15, intervalo automático, 60 imágenes y un retraso temporal de 20 segundos con una resolución intermedia. Los compuestos de ensayo se administraron tras la décima imagen mediante inyección en el espacio peritoneal. Las imágenes 1 a 10 se consideran la línea de base del animal y los datos se normalizaron a 55 una media de las intensidades de la línea base media.

Materiales y métodos: láser Doppler Pirimed PimII, niacina (Sigma), nembutal (Abbott Labs.).

Ejemplo 8

60 *Inhibición de la producción de ácidos grasos libres, *in vivo*, en ratas Sprague-Daly macho cateterizadas*

Se realizaron ensayos de ácidos grasos libres no esterificados (NEFA) en suero derivado de ratas vivas en movimiento libre. Se implantaron quirúrgicamente catéteres de vena yugular en las venas yugulares y se dejó que los animales se recuperasen durante por lo menos 48 horas tras la cirugía. Se retiró el alimento de los animales aproximadamente 16 horas antes del ensayo. Se sacaron ~200 μl de sangre del catéter, y representan la muestra de NEFA sérica de línea base. El fármaco se administró intraperitonealmente (IP) a diversas concentraciones en las ratas individuales y después se realizaron extracciones de sangre de ~200 μl por el catéter en los puntos temporales indicados para un

ES 2 267 077 T3

análisis adicional de NEFA. Los ensayos de NEFA se llevaron a cabo de acuerdo a las especificaciones del fabricante (Wako Chemicals, USA; NEFA C) y se determinaron las concentraciones de ácidos grasos libres mediante análisis de regresión de una curva estándar conocida (intervalo de ácidos grasos libres conocidos). Los datos se analizaron utilizando Excel y PrismGraph.

5 Ejemplo 9

A continuación se ilustra la invención mediante los ejemplos no limitativos siguientes, en los que, a menos que se indique lo contrario:

10 (i) todas las operaciones se llevaron a cabo a temperatura de laboratorio o ambiente, es decir, a una temperatura comprendida en el intervalo entre 18°C y 25°C;

15 (ii) la evaporación del solvente se llevó a cabo utilizando un evaporador rotatorio bajo presión reducida (4,5 a 30 mmHg) con una temperatura de baño de hasta 50°C;

20 (iii) el curso de las reacciones se siguió mediante cromatografía en capa fina (TLC) y/o chromatografía líquida de alto rendimiento en tandem (HPLC) seguido de espectrometría de masas (MS), denominada en la presente invención LCMS, y los tiempos de reacción se proporcionan únicamente a título ilustrativo;

25 (iv) la estructura de todos los compuestos finales se determinó mediante por lo menos una de las técnicas siguientes: MS o espectrometría de resonancia magnética nuclear protónica (^1H RMN), y la pureza se determinó mediante por lo menos una de las técnicas siguientes: TLC o HPLC;

25 (v) los rendimientos, en caso de proporcionarse se proporcionan únicamente a título ilustrativo;

30 (vi) los espectros de ^1H RMN se registraron en un instrumento Bruker Avance-400, Varian Unity o Varian Inova a 400, 500 ó 600 MHz utilizando el solvente indicado; cuando se proporcionan las líneas de datos de RMN, estos se encuentran en la forma de valores delta (δ) para los protones diagnósticos mayores, se proporcionan en partes por millón (ppm) respecto a los picos de solvente residual (multiplicidad y número de hidrógenos); las abreviaturas convencionales utilizadas para la forma de las señales son: s. singulete; d. doblete (aparente); t. triplete (aparente); m. multiplete; br. ancha;

35 (vii) los datos de MS se registraron en una unidad Waters Micromass o en un API 150EX, utilizando como interfaz un instrumento de HPLC Hewlett-Packard (agilent 1100) o Shimadzu (LC-10AD VP), y operando con el programa MassLynx/OpenLynx o Analyst 1.2; se utilizó la ionización de electropulverización con detección de iones positivos (ES^+) o negativos (ES^-); en el procedimiento para LCMS ES^+ : 1 a 2 ml/minuto, 10 a 95% de gradiente lineal B a lo largo de 5,5 minutos (B = TFA al 0,05%-acetonitrilo, A = TFA al 0,05%-agua), y el procedimiento para LCMS ES^- : 1 a 2 ml/minuto, 10 a 95% de gradiente lineal B a lo largo de 5,5 minutos (B = ácido fórmico al 0,1%-acetonitrilo, A = ácido fórmico al 0,1%-agua), Waters Xterra C18 - 3,5 μm , 50 x 3,0 mm de ID y detección por series de diodos;

40 (viii) la purificación de compuestos mediante HPLC preparativa en fase reversa (RPHPLC) se llevó a cabo en un Waters Symmetry Prep C18 - 5 μm - 30 x 100 mm de ID, o en un Waters Atlantis Prep dC18 - 5 μm - 20 x 100 mm de ID; 20 ml/minuto, 10 a 100% de gradiente lineal B a lo largo de 15 minutos (B = TFA al 0,05%-acetonitrilo, A = TFA al 0,05%-agua) y detección por series de diodos;

45 (ix) la purificación automatizada de compuestos mediante HPLC preparativa en fase reversa se llevó a cabo en un sistema Gilson utilizando una columna YMC-Pack Pro C18 (150 x 20 mm de i.d.) eluyendo a 20 ml/minuto con 0% a 50% de acetonitrilo en agua (TFA al 0,1%);

50 (x) la purificación de compuestos mediante cromatografía preparativa en capa fina (PTLC) se llevó a cabo en placas prep. de vidrio de 20 x 20 cm recubiertas con gel de sílice, o cromatografía centrífuga en un cromatófron utilizando rotores de vidrio recubierto con gel de sílice, ambos disponibles comercialmente de Analtech;

55 (xi) la cromatografía de columna se llevó a cabo en una columna de gel de sílice utilizando Kieselgel 60, 0,063 a 200 mm (Merck),

(xii) las irradiaciones de microondas se llevaron a cabo utilizando el Smith Synthesizer (Personal Chemistry).

60 (xiii) los símbolos químicos presentan sus significados habituales; también se han utilizado las abreviaturas siguientes: v (volumen), w (peso), b.p. (punto de ebullición), m.p. (punto de fusión), l (litro o litros), ml (mililitros), g (gramo o gramos), mg (miligramo o miligramos), mol (moles), mmol (milimoles), eq. o equiv. (equivalente o equivalentes), IC_{50} (concentración molar que resulta en el 50% de la inhibición máxima posible), EC_{50} (concentración molar que produce el 50% de la eficacia o respuesta máxima posible), μM (micromolar), nM (nanomolar).

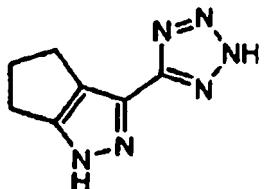
65 Los ejemplos siguientes se proporcionan para que la invención pueda entenderse más completamente.

Ejemplo 9.1

3-(2H-tetrazol-5-il)-1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol (*compuesto nº 1*)

5

10



Procedimiento A

15 *Preparación de compuesto nº 1*

Se introdujeron 1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-carbonitrilo (0,022 g, 0,165 mmoles) y azida sódica (0,086 g, 1,30 mmoles) en DMF (3 cm³) y se calentaron bajo irradiación de microondas a 175°C durante 20 minutos. La solución se enfrió hasta la temperatura ambiente, se filtró y el sólido filtrado se lavó con acetato de etilo. Las soluciones combinadas se añadieron a solución acuosa saturada de bicarbonato sódico (20 cm³) y se lavaron con acetato de etilo. La capa acuosa se acidificó hasta pH 1 mediante la adición de ácido hidroclórico acuoso 1 M y se extrajo en acetato de etilo. Los lavados con acetato de etilo se combinaron y el solvente se eliminó bajo presión reducida, el sólido resultante se purificó mediante HPLC preparativa, proporcionando 3-(2H-tetrazol-5-il)-1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol en forma de sólido blanco (0,012 g, 0,068 mmoles, 41%). ¹H-RMN δ (CD₃OD): 2,88 (similar a t, 2H, J=7,0), 2,82 (similar a t, 2H, J=7,3), 2,64 (similar a quintuplete, 2H, J=7,1); m/z (ES⁺): 177 [M+H]⁺.

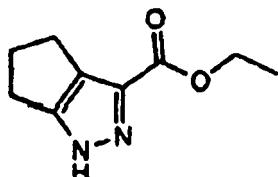
El intermedio 1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-carbonitrilo se preparó mediante el procedimiento siguiente.

30 Etapa A

Etil éster de ácido 1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico

35

40



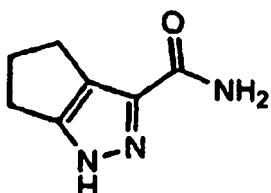
50

Etapa B

Amida de ácido 1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico

55

60



65

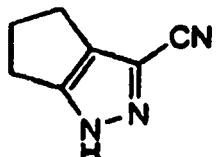
Se introdujo etil éster de ácido 1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico (0,808 g, 4,48 mmoles) en amonio metanólico (aproximadamente 7 M, 12 cm³) y se agitó durante la noche a 95°C. La solución resultante se enfrió y la amida de ácido 1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico precipitado se recogió mediante filtración en vacío en forma de sólido cristalino blanco (0,438 g, 2,90 mmoles, al 65%). ¹H (CD₃OD): 2,79 (similar a t, 2H, J=6,9), 2,73 (similar a t, 2H, J=7,3), 2,55 (br s, 2H); m/z (ES⁺): 152 [M+H]⁺.

Etapa C

1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-carbonitrilo

5

10



Se añadió amida de ácido 1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico (0,210 g, 1,39 mmoles) a acetonitrilo anhídrico (12 cm^3), se calentó a 80°C y se añadió cloruro sódico (2,0 g, 34 mmoles). Tras 15 minutos se añadió oxicloruro de fósforo (0,128 g, 0,83 mmoles) y la solución se calentó a 80°C durante la noche, se enfrió, se filtró, y el sólido recogido se lavó con acetonitrilo. Se eliminó el solvente de las soluciones combinadas bajo presión reducida y el sólido resultante se purificó mediante HPLC preparativa, proporcionando 1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-carbonitrilo en forma de sólido de color violeta profundo (0,031 g, 0,23 mmoles, al 17%). δ_H (CD_3OD): 2,79 (similar a t, 2H, J=7,3), 2,73 (similar a t, 2H, J=7,1), 2,65-2,55 (m, 2H); m/z (ES $^+$): 134 [M+H] $^+$.

20

Procedimiento B

Preparación de compuesto nº 1

25

30



Se burbujeó aire a través de una solución de agitación de 1-bencil-3-(2H-tetrazol-5-il)-1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol (1,92 g, 7,21 mmoles) y Kot-Bu (65 ml de una solución 1 M en THF) en DMSO (50 ml) durante un periodo de 2,0 horas. La reacción se acidificó a pH = 2 mediante la adición de HCl (3 M aq.). La mezcla se filtró y el filtrado se concentró en el vacío para eliminar los volátiles. El material se purificó mediante HPLC en fase inversa: columna C18 Phenomenex® Luna (10 μ , 250 x 50 mm), gradiente de CH_3CN al 5% (v/v) (que contenía TFA al 1% v/v) en H_2O (que contenía TFA al 1% v/v) a 50% de H_2O_3 , 60 ml/minuto, $\lambda = 214\text{ nm}$. El producto se purificó adicionalmente mediante la carga de material en un cartucho Varian BondElut® 109 SCX de 60 ml. Se pasó MeOH (150 ml) a través de la columna para eliminar las impurezas no unidas. A continuación, se eluyó el producto pasando una solución de NH_3 2 N en MeOH (150 ml) a través de la columna. La concentración del elujo proporcionó la sal amónica del compuesto nº 1 (947 mg, 5,38 mmoles, rendimiento del 75%) en forma de sólido blanco. ^1H RMN (sal amónica, 400 MHz, CD_3OD): δ 2,88 (2H, t, J=6,8 Hz), 2,74 (2H, t, J=6,8 Hz), 2,52 (2H, quin, J=6,8 Hz). HPLC/MS: columna C18 Discovery® (5 μ , 50 x 2,1 mm), gradiente de CH_3CN al 5% v/v (que contenía TFA al 1% v/v) en H_2O (que contenía TFA al 1% v/v) a CH_3CN al 99% v/v en H_2O , 0,75 ml/minuto, $t_r = 1,22$ minutos, ESI $^+ = 177,3$ (M+H). Análisis calculado para $\text{C}_7\text{H}_8\text{N}_6$ (compuesto neutro): C, 47,72; H 4,58. Observado: C, 47,27; H 4,16. Análisis calculado para $\text{C}_7\text{H}_{11}\text{N}_7$ (sal amónica): C, 43,51; H, 5,74. Observado: C, 42,94; H, 5,30.

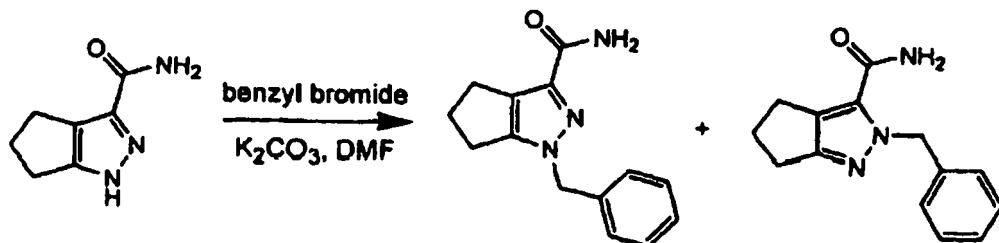
50 Se preparó el intermedio 1-bencil-3-(2H-tetrazol-5-il)-1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol mediante el procedimiento siguiente.

Etapa A

55 *Preparación de la amida del ácido 1-bencil-1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico y la amida del ácido 2-bencil-2,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico*

60

65



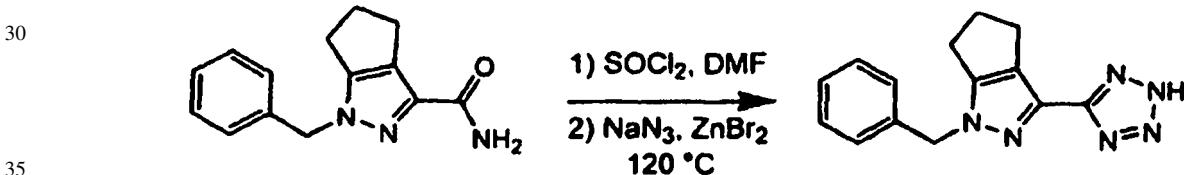
A una solución bajo agitación de amida de ácido 1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico (2,57 g, 17,0 mmoles) en DMF (34 ml) a 25°C se añadió K₂CO₃ (5,87 g, 42,5 mmoles) seguido de bromuro de bencilo (4,36 g, 25,5 mmoles). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas, momento en el que se diluyó la mezcla con EtOAc (75 ml) y se filtró. El filtrado se lavó con H₂O (100 ml) y la fase acuosa se extrajo nuevamente con EtOAc (75 ml) y CH₂Cl₂ (75 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron en el vacío. La purificación mediante cromatografía de gel de sílice (50% de EtOAc en gradiente de hexanos hasta el 95% de EtOAc en hexanos) proporcionó amida de ácido 2-bencil-2,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico (739 mg, 3,07 mmoles, rendimiento del 18%) aislado en forma de sólido blanco, seguido de amida de ácido 1-bencil-1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico (3,24 g, 13,4 mmoles, rendimiento del 79%) aislado en forma de sólido blanco.

Amida de ácido 1-bencil-1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 7,37-7,30 (3H, m), 7,19 (2H, m), 6,67 (1H, bs), 5,34 (1H, bs), 5,19 (2H, s), 2,82 (2H, m), 2,51 (4H, m). ¹³C APT RMN (100 MHz, CDCl₃): δ arriba: 164,8, 155,2, 139,0, 136,0, 129,5, 55,3, 31,2, 24,1; abajo: 129,0, 128,3, 127,8. HPLC/MS: columna C18 Alltech® Prevail (5 μm 50 x 4,6 mm), gradiente de CH₃CN al 5% v/v (que contenía TFA al 1% v/v) en H₂O (que contenía TFA al 1% v/v) a CH₃CN al 99% v/v en H₂O, 3,5 ml/minuto, t_r = 2,13 minutos, ESI⁺ = 242,2 (M+H).

Amida de ácido 2-bencil-2,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 7,34-7,21 (5H, m), 5,76 (2H, s), 5,70-5,38 (2H, bs), 2,78 (4H, m), 2,49 (2H, m). ¹³C APT RMN (100 MHz, CDCl₃): δ arriba: 161,9, 160,1, 138,3, 128,3, 127,1, 55,1, 29,9, 24,8, 24,7; abajo: 128,6, 128,0, 127,6. HPLC/MS: columna C18 Alltech® Prevail (5 μ, 50 x 4,6 mm), gradiente de CH₃CN al 5% v/v (que contenía TFA al 1% v/v) en H₂O (que contenía TFA al 1% v/v) a CH₃CN al 99% v/v en H₂O, 3,5 ml/minuto, t_r=1,98 minutos, ESI⁺ = 242,1 (M+H).

Etapa B

Preparación de 1-bencil-3-(2H-tetrazol-5-il)-1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol

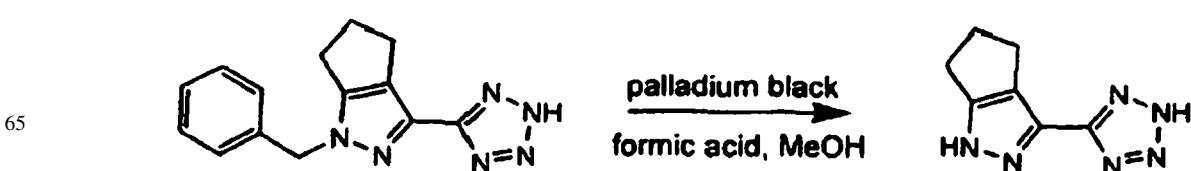


Se añadió cloruro de tionilo (1,94 g, 16,3 mmoles) a una solución de amida de ácido 1-bencil-1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico (3,02 g, 12,53 mmoles) en DMF (25 ml) a rt. La reacción se agitó durante 18 horas, momento en el que se añadió NaHCO₃ (solución acuosa saturada, 6 ml) para neutralizar el exceso de cloruro de tionilo. La mezcla se diluyó con EtOAc (150 ml) y se lavó secuencialmente con NaHCO₃ (solución acuosa saturada, 100 ml) y solución hipersalina (100 ml). Los lavados acuosos se extrajeron nuevamente con EtOAc (2 x 100 ml) y los compuestos orgánicos combinados se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron en el vacío, rindiendo un aceite crudo amarillo.

El concentrado se disolvió en DMF (20 ml) y se introdujo en un reactor de paredes gruesas, momento en el que se añadieron secuencialmente ZnBr₂ (4,70 g, 18,0 mmoles) y NaN₃ (2,73 g, 42,0 mmoles). El reactor se selló y se calentó a 120°C durante 18 horas. La mezcla se enfrió a rt y se añadió HCl (acuoso 3 M, 2 ml) y se continuó la agitación durante 5 minutos. La mezcla se diluyó con EtOAc (150 ml) y se lavó con HCl (acuoso, 1 M, 100 ml). Los compuestos orgánicos se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron. La purificación mediante cromatografía de gel de sílice (50:50:0,2, hexanos:EtOAc:AcOH, gradiente a 100:0,2, EtOAc:AcOH) proporcionó 1-bencil-3-(2H-tetrazol-5-il)-1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol (2,06 g, 7,75 mmoles, rendimiento del 62%) en forma de sólido blanco. ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD): δ arriba: 153,8, 151,9, 137,6, 131,5, 128,9, 55,8, 31,9, 24,8, 24,6; inferior: 129,9, 129,1, 129,0. HPLC/MS: columna C18 Discovery® (5 μ, 50 x 2,1 mm), gradiente de CH₃CN al 5% v/v (que contenía TFA al 1% v/v) en H₂O (que contenía TFA al 1% v/v) a CH₃CN al 99% v/v en H₂O, 0,75 ml/minuto, t_r=2,18 minutos, ESI⁺=267,1 (M+H).

Procedimiento C

Preparación del compuesto n° 1



Se añadió negro de paladio (39,8 g, 374 mmoles) a una solución de 1-bencil-3-(2H-tetrazol-5-il)-1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol (59,4 g, 223 mmoles) en ácido fórmico al 10%/MeOH (vol./vol., 900 ml). La mezcla se agitó mecánicamente bajo una atmósfera de N₂ durante 24 horas. La reacción se filtró y se concentró. El producto se purificó adicionalmente y se convirtió en la sal amónica mediante la carga de material (en forma de solución en MeOH) en una columna que contenía resina Bondesil SCX SPE (750 g). La columna se lavó con MeOH (2,0 l) para eliminar impurezas no unidas. El producto se eluyó utilizando NH₃ 2N/MeOH (aproximadamente 1,5 litros). Tras la concentración, se obtuvo la sal amónica del tetrazol (39,3 g, 203 mmoles, rendimiento del 91%) en forma de sólido blanco.

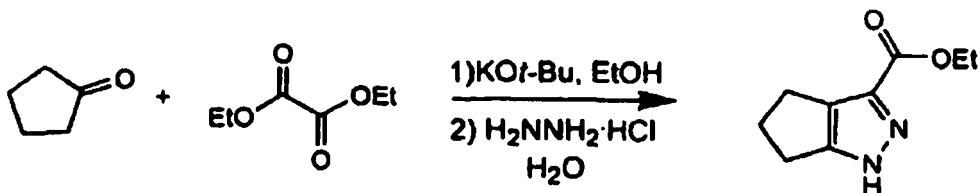
Se preparó el intermedio 1-bencil-3-(2H-tetrazol-5-il)-1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol mediante el procedimiento siguiente.

Etapa A

Preparación de etil éster de ácido 1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico

15

20



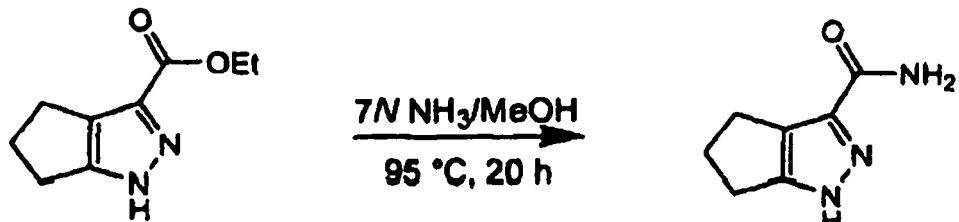
Se añadió una solución de Kot-Bu en THF (500 ml de una solución 1 M, 0,50 moles) a lo largo de 0,5 horas a través de un embudo de adición, a una solución de ciclopentanona (42,0 g, 0,50 moles) y oxalato de dietilo (73,1 g, 0,50 moles) en EtOH (2,5 litros) a rt bajo N₂. La reacción se agitó durante 3,5 horas, momento en el que el matraz se enfrió hasta 0°C. Se añadió hidrocloruro de hidrazina (37,6 g, 0,55 moles) en H₂O (250 ml) por el embudo de adición a lo largo de 0,5 horas. La reacción se calentó hasta rt y se agitó durante 15 horas. Se eliminaron los volátiles en el vacío y el sólido resultante se lavó con NaHCO₃ (acuoso saturado, 500 ml) y H₂O (500 ml). La concentración adicional en el vacío proporcionó etil éster de ácido 1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico puro (63,6 g, 0,35 moles, rendimiento del 71%) en forma de sólido amarillo.

Etapa B

35

Preparación de amida de ácido 1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico

45



Se disolvió etil éster de ácido 1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico (63,5 g, 0,35 mmoles) en una solución de NH₃ 7 N/MeOH (1,0 litros). La solución se dividió en cuatro partes iguales, cada una de las cuales se transfirió a un reactor sellado de 350 ml de paredes gruesas. Los reactores se calentaron a 95°C y se agitaron durante 20 horas. La reacciones se enfriaron hasta rt, momento en el que precipitó un sólido. La solución se filtró y el sólido se lavó con NaOH (solución acuosa 1 N, 200 ml), proporcionando amida de ácido 1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico puro (42,0 g, 0,20 moles, rendimiento del 80%) en forma de sólido blanco.

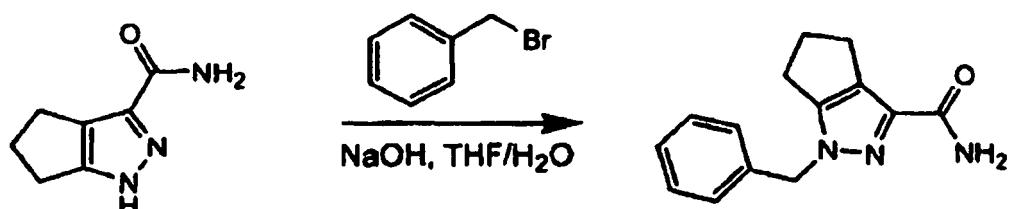
Etapa C

55

Preparación de amida de ácido 1-bencil-1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico y amida de ácido 2-bencil-1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico

60

65

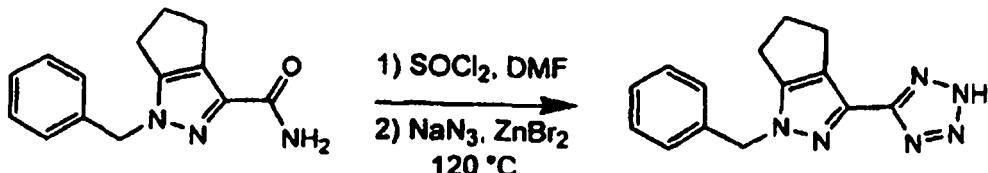


ES 2 267 077 T3

Se añadió una solución de NaOH (solución acuosa 5 N, 110 ml, 0,54 moles) a una solución de amida de ácido 1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico (41,5 g, 275 mmoles) en THF (460 ml) a rt. Tras agitar durante 5 minutos, se añadió bromuro de bencilo (49,2 g, 0,29 moles) y la reacción se agitó durante 16 horas. Se eliminaron los volátiles en el vacío y el sólido resultante se lavó con H₂O (3 x 250 ml). La concentración adicional proporcionó regiosímeros de amida de ácido 1-bencil-1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico y amida de ácido 1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico (65,3 g, 270 mmoles, rendimiento del 98%) en forma de mezcla 20:1 y se utilizaron sin separación.

Etapa D

Preparación de 1-bencil-3-(2H-tetrazol-5-il)-1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol

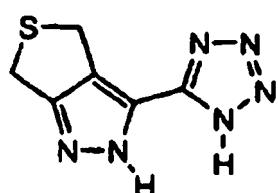


Se cargó un matraz dotado de un tubo de secado bajo atmósfera de N₂ con DMF anhidro (250 ml). El matraz se enfrió a 0°C y se añadió cloruro de tionilo (36,7 g, 309 mmoles) por medio de una jeringa a lo largo de un periodo de 5 minutos. Tras agitar durante 10 minutos adicionales, se añadió una solución de amida de ácido 1-bencil-1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico (67,7 g, 281 mmoles) en DMF (310 ml) a lo largo de 5 minutos utilizando un embudo de adición. La mezcla se calentó lentamente hasta rt y se agitó durante 16 horas. Se añadió NaHCO₃ (solución acuosa saturada, 100 ml) y la mezcla se agitó durante 10 minutos. Se eliminaron los volátiles en el vacío y el residuo se diluyó con EtOAc (700 ml) y NaHCO₃ (solución acuosa saturada, 700 ml). Las capas se separaron y la fase acuosa se extrajo nuevamente con EtOAc (400 ml). Se lavaron los compuestos orgánicos combinados con NaHCO₃ (solución acuosa saturada, 600 ml) y solución hipersalina (600 ml), se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron, proporcionando 63,1 g de nitrilo en forma de sólido marrón.

A una solución del nitrilo (de anteriormente) en DMF (560 ml) se añadió ZnBr₂ (95,6 g, 425 mmoles) seguido de NaN₃ (55,2 g, 849 mmoles). La mezcla se calentó a 120°C durante 14 horas. La reacción se calentó a rt y se separó el DMF en el vacío. Se añadió HCl (solución acuosa 2 N, 800 ml) y la mezcla se agitó durante 15 minutos seguido de filtración. El sólido se añadió a una mezcla bifásica de EtOAc (500 ml) y HCl (solución acuosa 5 N, 300 ml) y se agitó durante 0,5 horas. La solución se filtró y se separaron las capas. El sólido restante se trató nuevamente con EtOAc y HCl (solución acuosa 5 N) tal como se ha descrito anteriormente y se repitió este procedimiento (agitación, filtración, separación) hasta disolver todo el material sólido. Los filtrados orgánicos combinados se concentraron, proporcionando 1-bencil-3-(2H-tetrazol-5-il)-1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol (61,0 g, 229 mmoles, rendimiento del 81% de la amida) en forma de sólido marrón claro.

Ejemplo 9.2

3-(1H-tetrazol-5-il)-2,6-dihidro-4H-tieno[3,4-c]pirazol (compuesto nº 2)



Se preparó el compuesto nº 2 de una manera similar a la descrita en el Ejemplo 9.1, y se caracterizó mediante RMN y MS: ¹H RMN (400 MHz, MeOD): (400 MHz, CD₃OD) δ 4,11 (dd, J=4,0, 2,2 Hz, 2H), 4,03 (dd, J=3,6, 2,2 Hz, 2H). HPLC/MS: columna C18 YMC ODS-A Waters® (5 μ, 50 x 4,6 mm), gradiente de CH₃CN al 5% v/v (que contenía TFA al 1% v/v) en H₂O (que contenía TFA al 1% v/v) a CH₃CN al 99% v/v en H₂O, 3,5 ml/minuto, tr = 1,27 minutos, ESI⁺ = 194 (M+H).

Ejemplo 9.3

6-metil-3-(1*H*-tetrazol-5-il)-2,6-dihidro-4*H*-furo[3,4-*c*]pirazol (compuesto nº 3)

5

10



15 Se preparó el compuesto nº 3 de una manera similar a la descrita en el Ejemplo 9.1, se llevó a cabo una separación mediante cromatografía de columna de los regioisómeros tras la formación del pirazol.

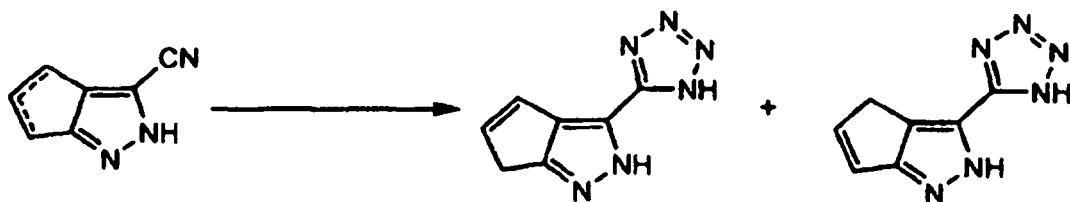
20 El compuesto nº 3 se caracterizó mediante RMN y MS: ^1H RMN (400 MHz, DMSO): δ 5,20 (m, 11H), 4,94 (dd, $J=34,7, 10,3$ Hz, 2H), 1,39 (d, $J=4,4$ Hz, 3H). HPLC/MS: columna C18 Alltech® Prevail (5μ , 50 x 4,6 mm), gradiente de CH₃CN al 5% v/v (que contenía TFA al 1% v/v) en H₂O (que contenía TFA al 1% v/v) a CH₃CN al 99% v/v en H₂O, 3,5 ml/minuto, $t_r=1,03$ minutos, ESI⁺=192 (M+H).

Ejemplo 9.4

25 3-(1*H*-tetrazol-5-il)-1,4-dihidro-ciclopentapirazol (compuesto nº 4) y 3-(1*H*-tetrazol-5-il)-1,6-dihidro-ciclopentapi-razol (compuesto nº 5)

30

35

**Compuesto 9.4**

40 Una solución de compuesto 9.4A en forma de mezcla isomérica (50 mg, 0,38 mmoles), azida sódica (86,54 mg, 1,33 mmoles) y bromuro de cinc (300 mg, 1,33 mmoles) en DMF (2 ml) se irradió con microondas a 200°C durante 6 horas. Tras enfriar a la temperatura ambiente, la mezcla de reacción se trató con una solución 2 N de HCl, se extrajo con EtOAc, se lavó con H₂O y se concentró en el vacío. La separación por HPLC (columna C18, CH₃CN 5 a 99% en H₂O) proporcionó 40,3 mg (61%) del producto deseado en forma de mezcla 2:1 de isómeros olefínicos. LC-MS m/z 175 (M+1): ^1H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 6,95 (m, 0,5H), 6,87 (m, 1H), 6,76 (m, 1H), 6,50 (m, 0,5H), 3,35 (m, 3H).

45 Los isómeros se separaron mediante HPLC en fase reversa: columna C18 Phenomenex® Luna (10μ , 250 x 21,2 mm), gradiente de CH₃CN al 5% (v/v) (que contenía TFA al 1% v/v) en H₂O (que contenía TFA al 1% v/v) a 70% de H₂O, 20 ml/minuto, $\lambda = 280$ nm.

50 Alternativamente, los isómeros se separaron mediante HPLC de fase normal: columna Si (prep.) de Dynamax Microsorb (8μ , 250 x 10 mm), gradiente de EtOAc al 80% (v/v) (que contenía AcOH al 2% v/v) en hexanos (que contenían AcOH al 2% v/v) a EtOAc al 99%, 7,5 ml/minuto, $\lambda = 280$ nm.

55

El orden de elución de los isómeros es el mismo para las columnas en fase normal y en fase reversa.

Isómero nº 1 (isómero de Rf elevada)

60

^1H RMN (400 MHz, MeOD): δ 6,79 (2, m), 3,42 (2H, m). HPLC/MS: columna C18 Discovery® (5μ , 50 x 2,1 mm), gradiente de CH₃CN al 5% v/v (que contenía TFA al 1% v/v) en H₂O (que contenía TFA al 1% v/v) a CH₃CN al 99% en H₂O, 0,75 ml/min, $t_r=1,10$ minutos, ESI⁺=174,9 (M+H).

65

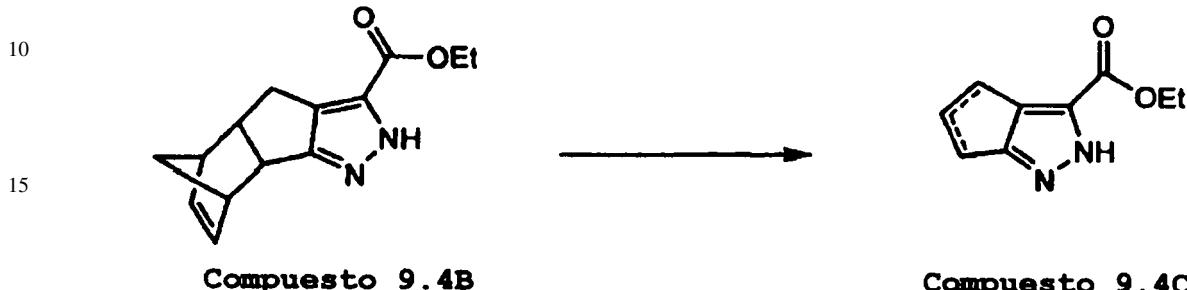
Isómero nº 2 (isómero de Rf reducida):

^1H RMN (400 MHz, MeOD): δ 6,98 (1H, m), 6,44 (1H, m), 3,33 (2H, m). HPLC/MS: columna C18 Discovery® (5μ , 50 x 2,1 mm), gradiente de CH₃CN al 5% v/v (que contenía TFA al 1% v/v) en H₂O (que contenía TFA al 1% v/v) a CH₃CN al 99% v/v en H₂O, 0,75 ml/minuto, $t_r=1,11$ minutos, ESI⁺=175,1 (M+H).

Se preparó el compuesto intermedio 9.4A, en forma de mezcla isomérica, mediante las etapas siguientes:

Etapa A

- 5 *Preparación de etil éster de ácido 2,6-dihidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico y etil éster de ácido 2,4-dihidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico (mezcla)*



20 Se preparó el compuesto 9.4B a partir de la cetona correspondiente mediante un procedimiento similar al descrito en la presente invención para la preparación de ésteres de pirazol (ver el Ejemplo 14.2). Una solución de compuesto 9.4B (2,0 g, 8,19 mmoles) en éter fenílico (25 ml) se calentó a reflujo (250°C a 260°C) bajo nitrógeno durante 2 horas.

- 25 Tras enfriar la solución hasta la temperatura ambiente, se cargó en una columna de SiO₂, se lavó con DCM para hacer salir el éter fenílico, y se eluyó con EtOAc/Hex (1/3), proporcionando 1,05 g (72%) de compuesto 9.4C en forma de mezcla de isómeros olefínicos. LC-MS m/z 179 (M+1).

Etapa B

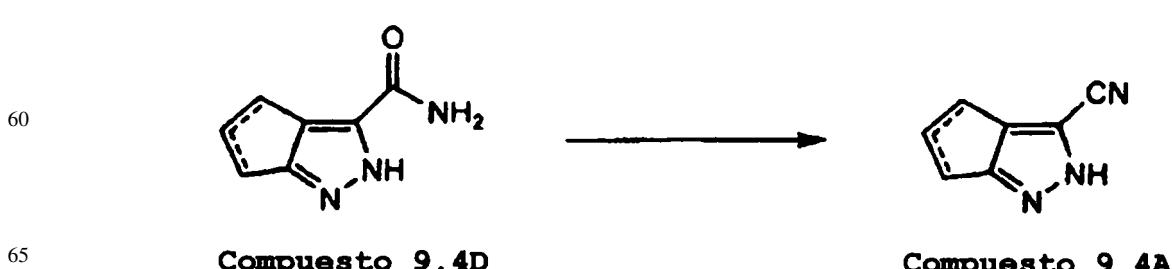
- 30 *Preparación de amida de ácido 2,6-dihidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico y amida de ácido 2,4-dihidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico (mezcla)*



45 Se disolvió el compuesto 9.4C, en forma de mezcla isomérica (1,0 g, 5,61 mmoles) en una cantidad minúscula de dioxano (<5 ml) y se mezcló con solución de hidróxido amónico al 28% (100 ml) en un recipiente herméticamente sellado. La solución se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas y se concentró en el vacío, proporcionando el compuesto 9.4D en forma de mezcla isomérica, como sólido a rendimiento cuantitativo. LC-MS m/z 150 (M+1).

50 Etapa C

- 55 *Preparación de 2,6-dihidro-ciclopentapirazol-3-carbonitrilo y 2,4-dihidro-ciclopentapirazol-3-carbonitrilo (mezcla)*



ES 2 267 077 T3

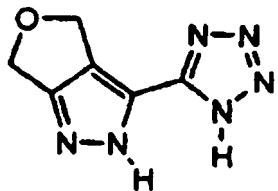
A una suspensión de compuesto 9.4D, en forma de mezcla isomérica (0,80 g, 5,36 mmoles) y carbonato de potasio (0,445 g, 3,22 mmoles) en acetonitrilo (30 ml) se añadió POCl₃ (0,785 ml, 8,58 mmoles) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 2 horas. Tras concentrar en el vacío, el residuo se diluyó con EtOAc (150 ml), se lavó con H₂O y solución hipersalina, se secó (Na₂SO₄) y se concentró, proporcionando 141 mg (al 20%) de compuesto 9.4A en forma de mezcla isomérica. LC-MS m/z 132 (M+1).

Ejemplo 9.5

*3-(1*H*-tetrazol-5-il)-2,6-dihidro-4*H*-furo[3,4-*c*]pirazol (compuesto nº 6)*

10

15



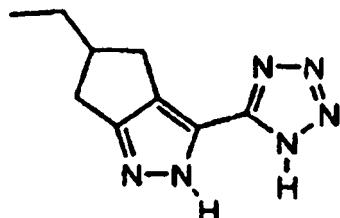
Se preparó el compuesto nº 6 de una manera similar a la descrita en el Ejemplo 9.1, y se caracterizó mediante RMN y MS; LC-MS m/z 179 (M+1): ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 5,07 (t, J=2,2 Hz, 2H), 4,92 (t, J=2,2 Hz, 2H).

Ejemplo 9.6

*5-etil-3-(1*H*-tetrazol-5-il)-2,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapiroazol (compuesto nº 7)*

25

30



35

40

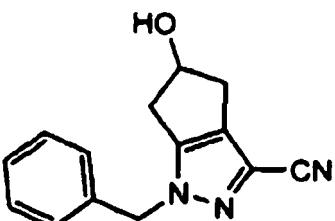
Se preparó el compuesto nº 7 de manera similar a la descrita en el Ejemplo 9.1, y se caracterizó mediante RMN y MS: ¹H RMN (MeOD, 400 MHz): δ 3,07 (1H, dd, J=14,8, 7,6 Hz), 2,94-2,82 (2H, m), 2,51 (1H, dd, J=15,2, 6,8 Hz), 2,41 (1H, dd, J=13,6, 5,6 Hz), 1,6 (2H, m), 1,02 (3H, t, J=7,2 Hz). HPLC/MS: columna C18 Discovery® (5 μ, 50 x 2,1 mm), gradiente de CH₃CN al 5% v/v (que contenía TFA al 1% v/v) en H₂O (que contenía TFA al 1% v/v) a CH₃CN al 99% v/v en H₂O, 0,75 ml/minuto, tr=1,42 minutos, ESI⁺=205,2 (M+H).

45

Ejemplo 9.7

Preparación del intermedio 1-bencil-5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidrociclopenta[c]pirazol-3-carbonitrilo

50



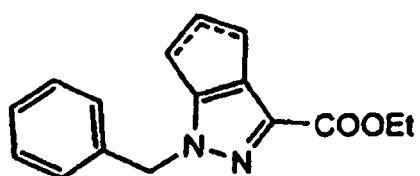
55

Etapa A

Preparación de etil éster de ácido 1-bencil-1,6-dihidro-ciclopentapiroazol-3-arboxílico y etil éster de ácido 1-bencil-1,4-dihidro-ciclopentapiroazol-3-carboxílico (mezcla)

60

65

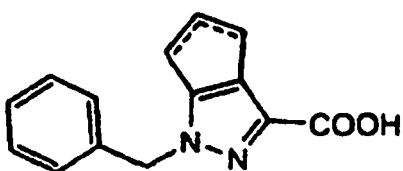


ES 2 267 077 T3

A una solución del pirazol (compuesto 9.4c, ver el Ejemplo 9.4, etapa A, 2,0 g, 11,22 mmoles) en THF anhidro (100 ml) se añadió bromuro de bencilo (5,36 mmoles, 44,88 mmoles) y NaOH (1,79 g, 44,88 mmoles). Tras agitar a temperatura ambiente durante 1 hora, la reacción se detuvo con HCl 1 N (100 ml). La mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo, se lavó con HCl 1 N, solución saturada de NaHCO₃, y solución hipersalina, y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. La solución se filtró y se concentró en el vacío. Este material se purificó en la columna 40 M flash de Biotage (SiO₂) utilizando acetato de etilo al 30%-hexanos. Se obtuvo un aceite incoloro. LC-MS: 3,22 minutos; (M+Na)=291,1.

Etapa B

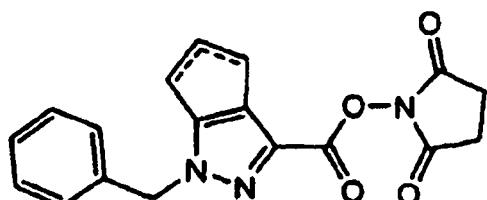
Preparación de ácido 1-bencil-1,6-dihidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico y ácido 1-bencil-1,4-dihidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico (mezcla)



A una solución del intermedio de la etapa A (3,55 g, 1,323 mmoles) en THF/MeOH 1:1 (40 ml) se añadió una solución de NaOH (5 N, 3,9 ml, 20 mmoles). Tras 3 horas a temperatura ambiente, la reacción se detuvo mediante la adición de HCl 1 N (22 ml). La capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (3X), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró en el vacío. Se obtuvo un sólido amarillo que se utilizó en la etapa siguiente sin ninguna purificación adicional. LC-MS: 2,62 minutos; (M+H)=241,1.

Etapa C

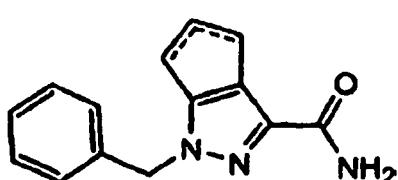
Preparación de 2,5-dioxo-pirrolidón-1-il éster de ácido 1-bencil-1,6-dihidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico y de 2,5-dioxo-pirrolidón-1-il éster de ácido 1-bencil-1,4-dihidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico (mezcla)



A una solución del intermedio de la etapa B (3,17 g, 13,23 mmoles) en CH₂Cl₂ (200 ml) se añadió N-hidroxysuccinimida (3,04 g, 26,46 mmoles) seguido de EDC (5,07 g, 26,46 mmoles). Tras agitar la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 18 horas, se concentró en el vacío. El residuo se diluyó con acetato de etilo (200 ml), se lavó con solución saturada de NaHCO₃ y solución hipersalina. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró en el vacío. Se obtuvo un sólido amarillo. LC-MS: 2,99 minutos; (M+H)=338,1.

Etapa D

Preparación de amida de ácido 1-bencil-1,6-dihidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico y amida de ácido 1-bencil-1,4-dihidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico (mezcla)



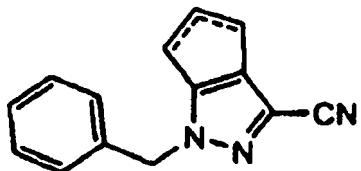
A una solución del intermedio de la etapa C (4,45 g, 13,22 mmoles) en 1,4-dioxano (150 ml) se añadió NH₄OH (14,8 N, 10,0 eq., 9,1 ml). Inmediatamente se formó un precipitado. Tras agitar a temperatura ambiente durante 15 minutos, la mezcla de reacción se filtró a través de un embudo sinterizado y el precipitado se lavó con 1,4-dioxano. El filtrado se concentró en el vacío, proporcionando un sólido amarillo. LC-MS: 2,55 minutos; (M+H)=240,1.

Etapa E

Preparación de 1-bencil-1,6-dihidro-ciclopentapirazol-3-carbonitrilo y 1-bencil-1,4-dihidro-ciclopentapirazol-3-carbonitrilo (mezcla)

5

10



15

A una solución del intermedio de la etapa D en DMF anhidro (50 ml) se añadió cloruro cianúrico (2,33 g, 13,2 mmoles). Tras agitar a temperatura ambiente durante 15 minutos, la reacción se detuvo vertiéndola en agua (100 ml). La mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo, se lavó con NaHCO_3 saturado y solución hipersalina, se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró en el vacío. El residuo se purificó en una columna 40 M flash de Biotage (SiO_2) utilizando acetato de etilo al 20%-hexanos. Se obtuvo un sólido blanco. LC-MS: 3,22 minutos; $(M+H)=222,2$.

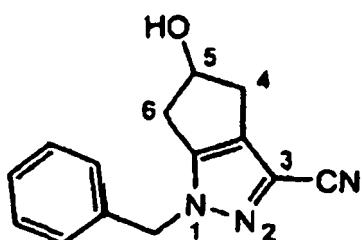
20

Etapa F

Preparación de 1-bencil-5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-carbonitrilo

25

30



35

40

A una solución del intermedio de la etapa E (0,95 g, 4,29 mmoles) en THF anhidro (40 ml) enfriada a 0°C bajo una atmósfera de N₂ se añadió borano-THF (23 mmoles, 5,36 eq., solución 1,0 M). La reacción se calentó hasta la temperatura ambiente y se agitó durante 1 hora. A continuación, la reacción se enfrió hasta 0°C. Se añadió agua (3 ml), seguido de NaOH (4,29 mmoles, 1,43 ml, 3 N) y H₂O₂ (12,88 mmoles, 1,32 ml, solución al 30% en agua). Tras calentar la reacción a 50°C durante 30 minutos, se enfrió hasta la temperatura ambiente y se detuvo mediante la adición de agua. La mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo (3X). La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró en el vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía flash utilizando acetato de etilo al 30%-hexanos, proporcionando una mezcla 1:1 de los alcoholes C-5 y C-6.

45

Isómero menos polar (alcohol C-6, compuesto nº 17): ¹H RMN (500 MHz, CDCl_3): δ 7,2 (m, 5H), 5,35 (d, $J=14,9$ Hz, 1H), 5,31 (d, $J=14,6$ Hz, 1H), 4,99 (dd, $J=3,4, 6,9$ Hz, 1H), 2,9 (m, 2H), 2,6 (m, 1H), 2,35 (m, 1H). LC-MS: 2,76 minutos; $(M+H)=240,1$.

50

Isómero más polar (alcohol C-5): ¹H RMN (500 MHz, CDCl_3): δ 7,4-7,2 (m, 5H), 5,28 (d, $J=14,8$ Hz, 1H), 5,25 (d, $J=14,9$ Hz, 1H), 5,01 (m, 1H), 3,13 (dd, $J=6,4, 15,8$ Hz, 1H), 2,89 (dd, $J=6,6, 16,2$ Hz, 1H), 2,68 (dd, $J=3,7, 16,0$ Hz, 1H), 2,52 (dd, $J=3,4, 16,2$ Hz, 1H). LC-MS: 2,60 minutos; $(M+H)=240,1$.

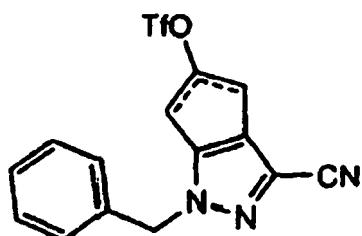
Ejemplo 9.8

55

Preparación del intermedio 1-bencil-3-ciano-1,6-difluoro-ciclopentapirazol-5-il éster de ácido trifluorometano-sulfónico y bencil-3-ciano-1,4-dihidro-ciclopentapirazol-5-il éster de ácido trifluoro-metanosulfónico como mezcla regiosomérica

60

65

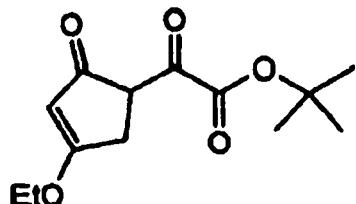


Etapa A

Preparación de terc-butil éster de ácido (4-etoxi-2-oxo-ciclopent-3-nil)oxoacético

5

10



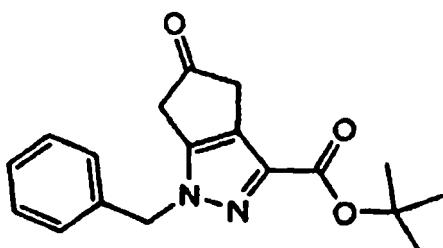
15 A una solución de 3-etoxiciclopentenona (2,12 g, 16,82 mmoles) en THF anhidro (40 ml) enfriada hasta -78°C bajo una atmósfera de nitrógeno se añadió diisopropilamida de litio (12 ml, 24 mmoles, 2,0 M en THF). Tras 15 minutos, se añadió una solución de di-terc-butil dioxalato (3,73 g, 18,5 mmoles) en THF (15 ml). La mezcla de reacción se agitó a -78°C durante 15 minutos y después se calentó hasta -20°C y se agitó durante 15 minutos adicionales. La reacción se detuvo con HCl 1 N (40 ml) y se extrajo con acetato de etilo (3X). La capa orgánica se lavó con solución hipersalina, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró en el vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía flash (SiO₂) utilizando acetato de etilo al 35%-hexanos, proporcionando el producto deseado (2,53 g) en forma de sólido blanquecino.

25 Etapa B

Preparación de terc-butil éster de ácido 1-bencil-5-oxo-1,4,5,6-tetrahidrociclopentapirazol-3-carboxílico

30

35



40 A una solución del intermedio de la etapa A (2,15 g, 8,45 mmoles) en etanol (100 ml) se añadió hidrocloruro de bencil hidrazina (1,8 g, 9,22 mmoles) y HOAc (10 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas y después se sometió a refljo a 70°C durante 30 minutos. La reacción se enfrió hasta la temperatura ambiente y se concentró en el vacío. El residuo se disolvió en acetato de etilo y se lavó con agua, NaHCO₃ saturado y solución hipersalina. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró en el vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía flash (SiO₂) utilizando acetato de etilo al 30%-hexanos, proporcionando el producto deseado (1,64 g) en forma de aceite marrón.

45

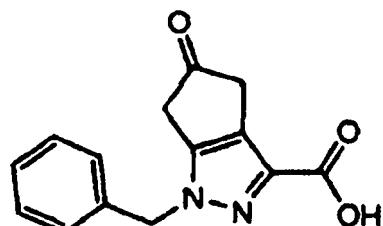
Etapa C

50

Preparación de ácido 1-bencil-5-oxo-1,4,5,6-tetrahidrociclopentapirazol-3-carboxílico

55

60



65 A una solución del intermedio de la etapa B (1,64 g, 5,25 mmoles) en diclorometano (20 ml) se añadió ácido trifluoroacético (20 ml) y la solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. La mezcla de reacción se concentró en el vacío y se formó mezcla azeotrópica con tolueno (3X). El material se trasladó a la etapa siguiente sin purificación adicional.

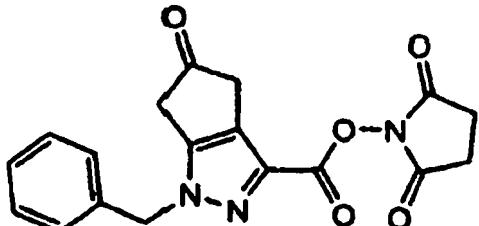
Etapa D

Preparación de 2,5-dioxo-pirrolidón-1-il éster de ácido 1-bencil-5-oxo-1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico

5

10

15



A una solución del intermedio de la etapa C (1,34 g, 5,25 mmoles) en CH_2Cl_2 (50 ml) se añadió N-hidroxisuccinimida (1,21 g, 10,5 mmoles), seguido de EDC (2,01 g, 10,5 mmoles). Tras agitar a temperatura ambiente durante 18 horas, la mezcla de reacción se concentró en el vacío. El residuo se diluyó con acetato de etilo (200 ml), se lavó con solución saturada de NaHCO_3 y solución hipersalina. La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4 anhidra, se filtró y se concentró en el vacío. Se obtuvo un sólido amarillo.

20

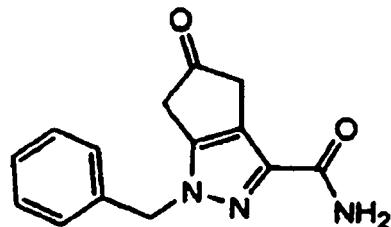
Etapa E

25

Preparación de amida de ácido 1-bencil-5-oxo-1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico

30

35



A una solución del intermedio de la etapa D (2,0 g, 5,25 mmoles) en 1,4-dioxano (50 ml) se añadió NH_4OH (14,8 N, 10,0 eq., 3,53 ml). Se formó inmediatamente un precipitado. Tras agitar a temperatura ambiente durante 15 minutos la mezcla de reacción se filtró a través de un embudo filtrante y el precipitado se lavó con 1,4-dioxano. El filtrado se concentró en el vacío, proporcionando un sólido.

40

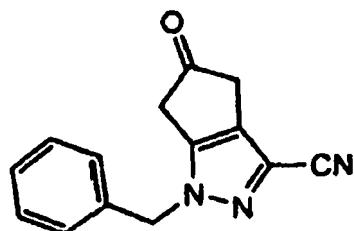
Etapa F

45

Preparación de 1-bencil-5-oxo-1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-carbonitrilo

50

55



A una solución del intermedio de la etapa E (5,25 mmoles) en DMF (60 ml) se añadió cloruro cianúrico (3,12 g, 17 mmoles) en tres partes. Tras 30 minutos a temperatura ambiente, la reacción se detuvo con agua y se extrajo con acetato de etilo (2X). La capa orgánica se lavó con agua, solución hipersalina y se secó sobre Na_2SO_4 anhidra, se filtró y se concentró en el vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía flash (SiO_2) utilizando acetato de etilo al 30%-hexanos, proporcionando el producto deseado (0,95 g) en forma de sólido amarillo.

60

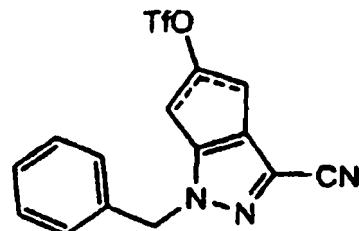
65

Etapa G

Preparación de 1-bencil-3-ciano-1,6-dihidro-ciclopentapirazol-5-il éster de ácido trifluorometanosulfónico y 1-bencil-3-ciano-1,4-dihidro-ciclopentapirazol-5-il éster de ácido trifluorometanosulfónico (mezcla)

5

10



15

A una solución del intermedio de la etapa F (447 mg, 1,87 mmoles) en THF anhidro (14 ml) a -78°C se añadió una solución de diisopropilamida de litio recién preparada (1,89 mmoles) en THF (6 ml). Tras agitar la reacción a -78°C durante 30 minutos, se añadió 2[N,N-bis(trifluorometilsulfonil)amina]-5-cloropiridina (1,4 g, 3,6 mmoles). La reacción se calentó hasta -20°C y se agitó durante 3 horas. La reacción se detuvo con solución saturada de NH₄Cl, y la mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo, se lavó con solución 1 N de HCl, solución saturada de NaHCO₃ y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. La solución se filtró y se concentró en el vacío. El residuo se purificó en el cromatotrófón utilizando un rotor de 2.000 micrómetros (SiO₂) y acetato de etilo al 5%-hexanos como eluyente, proporcionando 393 mg del producto deseado en forma de mezcla 2:1 de regiosímeros de doble enlace.

25

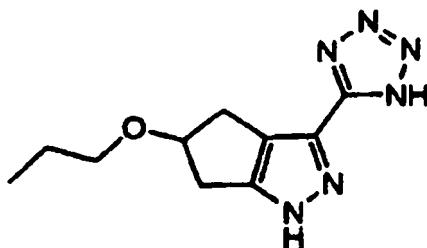
¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): (isómero mayor) δ 7,45-7,3 (m, 5H), 6,06 (bt, 1H), 5,41 (s, 2H), 3,56 (bd, 2H). ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): (isómero menor) δ 7,45-7,3 (m, 5H), 6,63 (bt, 1H), 5,39 (s, 2H), 3,18 (bd, 2H). LC-MS: (M+H)=370,25.

Ejemplo 9.9

30

*5-propoxi-3-(1*H*-tetrazol-5-il)-2,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol (compuesto nº 12)*

35

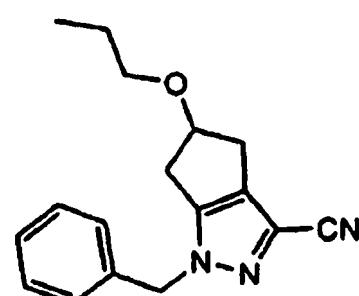


40

Etapa A

Preparación de 1-bencil-5-propoxi-1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-carbonitrilo

50



55

60

A una solución de 1-bencil-5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidrociclo-penta[c]pirazol-3-carbonitrilo (ver el Ejemplo 9.7, 30 mg, 0,125 mmoles) en DMF anhidro (2 ml) se añadió hidruro sódico (6 mg, 0,15 mmoles, dispersión al 60% en aceite). Tras agitar durante 3 minutos, se añadió bromuro de propilo (14 µl, 0,15 mmoles) y la mezcla resultante se agitó durante una hora. Al final de este tiempo, se añadieron hidruro sódico (6 mg, 0,15 mmoles, dispersión al 60%) y bromuro de propilo. Tras 30 minutos, la reacción se detuvo mediante la adición de solución saturada de NH₄Cl (3 ml). La mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo, se lavó con solución hipersalina, se secó sobre Na₂SO₄

ES 2 267 077 T3

anhidro, se filtró y se concentró en el vacío. El residuo se purificó mediante PTLC (SiO_2) utilizando acetato de etilo al 15%-hexanos, proporcionando el producto deseado.

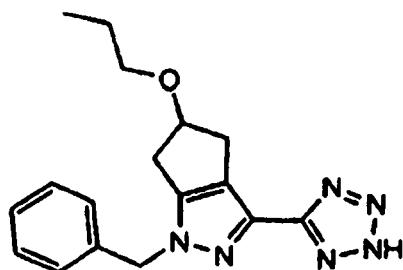
Etapa B

5

Preparación de 1-bencil-5-propoxi-3-(2H-tetrazol-5-il)-1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol

10

15



20 A una solución del intermedio de la etapa A (25 mg, 0,089 mmoles) en 2-propano (1 ml) se añadió agua (2 ml), azida sódica (14 mg, 0,222 mmoles) y bromuro de cinc (10 mg, 0,04 mmoles). Tras calentar la mezcla de reacción a 90°C durante 18 horas, se enfrió hasta la temperatura ambiente y se añadió HCl (3 ml, 3 N). La mezcla de reacción se extrajo con acetato de etilo, se lavó con solución hipersalina, se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró, y se concentró en el vacío. El residuo se purificó mediante PTLC (SiO_2) utilizando acetato de etilo al 100%, proporcionando el producto deseado.

25

Etapa C

30

5-propoxi-3-(1H-tetrazol-5-il)-2,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol (compuesto nº 12)

35

A una solución del intermedio de la etapa B (26 mg, 0,08 mmoles) en DMSO (0,6 ml) se añadió t-butóxido de potasio (0,6 ml, 1,0 M en THF). Se burbujeó gas oxígeno a través de la mezcla de reacción durante 15 minutos. La reacción se detuvo con HCl (3 ml, 3 N). La mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo (5 X), se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró en el vacío. El residuo se purificó mediante HPLC en fase reversa, proporcionando el compuesto del título. ^1H RMN (CDCl_3) δ 4,80 (m, 1H), 3,51 (m, 2H), 3,24 (dd, $J=6,8, 15,5$ Hz, 1H), 3,18 (dd, $J=6,9, 16,0$ Hz, 1H), 2,85 (dd, $J=4,1, 15,6$ Hz, 1H), 2,79 (dd, $J=4,4, 16,1$ Hz, 1H), 1,62 (m, 2H), 0,96 (t, $J=7,6$ Hz, 3H). LC-MS: 2,15 minutos; ($M+H$)=235.

40

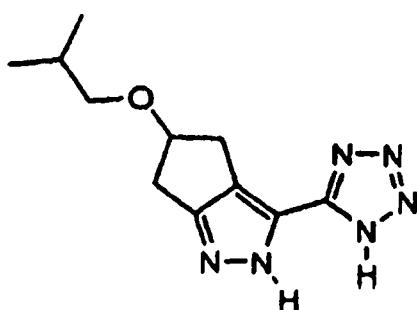
Ejemplo 9.10

5-isobutoxi-3-(1H-tetrazol-5-il)-2,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol (compuesto nº 15)

45

50

55



60

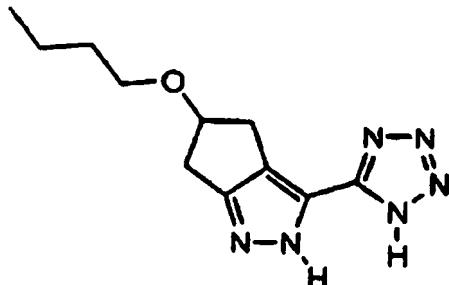
El compuesto del título se preparó a partir de 1-bencil-5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidrociclopenta[c]pirazol-3-carbonitrilo (ver el Ejemplo 9.7) utilizando un procedimiento similar al descrito para la síntesis del Ejemplo 9.8. ^1H RMN (CDCl_3) δ 4,77 (m, 1H), 3,33 (m, 2H), 3,23 (dd, $J=6,9, 15,5$ Hz, 1H), 3,17 (dd, $J=6,9, 16,0$ Hz, 1H), 2,85 (dd, $J=4,1, 15,6$ Hz, 1H), 2,79 (dd, $J=4,2, 15,9$ Hz, 1H), 1,85 (m, 1H), 0,94 (d, $J=6,7$ Hz, 3H). LC-MS: 2,42 minutos; ($M+H$)=249.

65

Ejemplo 9.11

5-butoxi-3-(1*H*-tetrazol-5-il)-2,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapiroazol (*compuesto n° 16*)

5



10

15

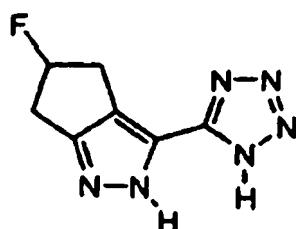
El compuesto del título se preparó a partir de 1-bencil-1,4,5,6-tetrahidrociclopenta[c]pirazol-3-carbonitrilo (ver el Ejemplo 9.7) utilizando un procedimiento similar al descrito para la síntesis del Ejemplo 9.8. ¹H RMN (CDCl₃) δ 4,78 (m, 1H), 3,56 (m, 2H), 3,24 (dd, J=6,8, 15,6 Hz, 1H), 3,17 (dd, J=6,9, 15,9 Hz, 1H), 2,84 (dd, J=4,1, 15,6 Hz, 1H), 2,77 (dd, J=4,6, 16,0 Hz, 1H), 1,58 (m, 2H), 1,42 (m, 2H), 0,95 (t, J=7,3 Hz, 3H). LC-MS: 2,50 minutos; (M+H)=249.

Ejemplo 9.12

5-fluoro-3-(1*H*-tetrazol-5-il)-2,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapiroazol (*compuesto n° 14*)

30

35



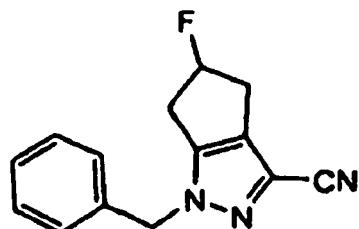
Etapa A

40

Preparación de 1-bencil-5-fluoro-1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapiroazol-3-carbonitrilo

45

50



60

65

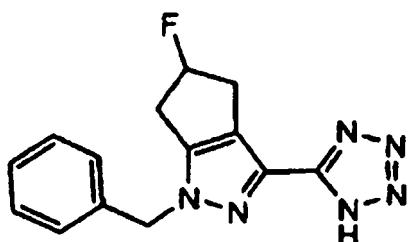
A una solución de 1-bencil-5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidrociclopenta[c]pirazol-3-carbonitrilo (ver el Ejemplo 9.7, 30 mg, 0,125 mmoles) en diclorometano anhídrico (0,9 ml) se añadió DAST (33 µl, 0,25 moles) bajo una atmósfera de nitrógeno. Tras agitar a temperatura ambiente durante 15 minutos, la mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo, se lavó con solución saturada de NaHCO₃ y solución hipersalina. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhídrico, se filtró y se concentró en el vacío. El residuo se purificó mediante pTLC (SiO₂) utilizando acetato de etilo al 30%-hexanos, proporcionando el producto deseado (16 mg).

Etapa B

*Preparación de 1-bencil-5-fluoro-3-(1*H*-tetrazol-5-il)-1,4,5,6-tetrahidrociclopentapiroazol*

5

10



15 El compuesto se preparó a partir del intermedio ciano de la etapa A mediante un procedimiento similar al descrito en el Ejemplo 9.8, etapa B.

Etapa C

20 *5-fluoro-3-(1*H*-tetrazol-5-il)-2,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapiroazol (compuesto nº 14)*

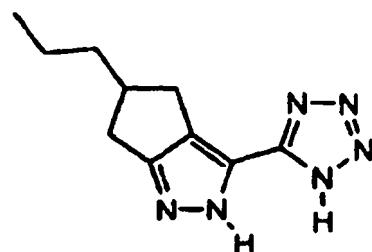
A una solución del intermedio de la etapa B (13 mg, 0,04 mmoles) en MeOH (1 ml) se añadió ácido fórmico (0,1 ml) seguido de negro de paladio (10 mg). Tras agitar la mezcla de reacción bajo una atmósfera de nitrógeno durante 96 horas, se filtró y se concentró en el vacío. El residuo se purificó mediante HPLC de fase reversa (Gilson), proporcionando el compuesto del título (4,9 mg). ¹H RMN (CD₃OD, 500 MHz) δ 5,8 (d, J=51,9 Hz, 1H), 3,31-3,17 (m, 2H), 3,14-2,92 (m, 2H). LC-MS: 0,99 minutos; (M+H)=195,17.

Ejemplo 9.13

30 *5-propil-3-(1*H*-tetrazol-5-il)-2,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapiroazol (compuesto nº 11)*

35

40

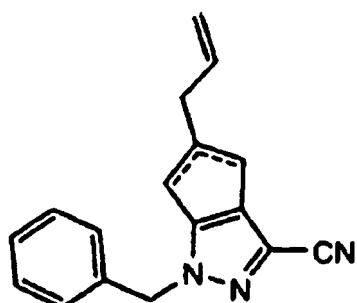


Etapa A

45 *Preparación de 5-alquil-1-bencil-1,6-dihidro-ciclopentapiroazol-3-carbonitrilo y 5-alil-1-bencil-1,4-dihidro-ciclopentapiroazol-3-carbonitrilo (mezcla)*

50

55

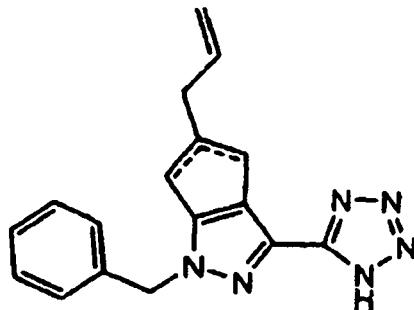


60 A una solución del intermedio éster trifluorometanosulfónico indicado en el Ejemplo 9.8 (114 mg, 0,307 mmoles) en THF anhidro (2 ml) se añadió tri-n-butil alil estaño (112 mg, 0,338 mmoles), cloruro de litio (39 mg, 0,923 mmoles) y tetraquis trifenil fosfina-paladio (0) (7,1 mg, 0,006 mmoles). Tras someter a reflujo la mezcla de reacción durante 6 horas, se enfrió hasta la temperatura ambiente y se filtró. El residuo se concentró en el vacío y se purificó en el cromatotróno utilizando un rotor de 2.000 micrómetros (SiO₂) y acetato de etilo al 20%-hexanos como eluyente, proporcionando el producto deseado (33 mg).

Etapa B

Preparación de 5-alil-1-bencil-3-(1*H*-tetrazol-5-il)-1,6-dihidro-ciclopentapirazol y 5-alil-1-bencil-3-(1*H*-tetra-
zol-5-il)-1,4-dihidro-ciclopentapirazol (mezcla)

5



10

15

20

El compuesto se preparó a partir del intermedio obtenido en la etapa A anterior mediante un procedimiento similar al descrito en el Ejemplo 9.8, etapa B.

Etapa C

5-propil-3-(1*H*-tetrazol-5-il)-2,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol

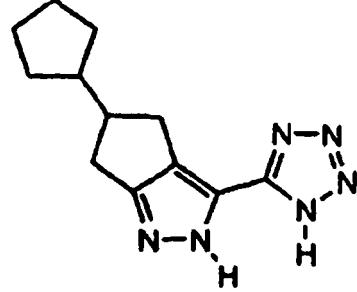
25

A una solución del intermedio de la etapa B (18 mg, 0,059 mmoles) en metanol se añadieron unas cuantas gotas de HCl concentrado hasta que la reacción fuese homogénea. Se añadió Pd/C (1,8 mg) y la mezcla resultante se agitó bajo una atmósfera de hidrógeno (balón) durante 24 horas. La mezcla de reacción se filtró, se concentró en el vacío y se purificó mediante HPLC de fase reversa, proporcionando el compuesto del título. ^1H RMN (CD_3OD , 500 MHz) δ 3,06 (m, 2H), 2,97 (dd, $J=7,5, 15,1$ Hz, 1H), 2,5 (m, 2H), 1,6 (m, 2H), 1,4 (m, 2H), 0,98 (t, $J=7,3$ Hz, 3H). LC-MS: 2,60 minutos; $(\text{M}+\text{H})=219,36$.

30

Ejemplo 9.14

35 5-ciclopentil-3-(1*H*-tetrazol-5-il)-2,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol (compuesto nº 13)



40

45

Etapa A

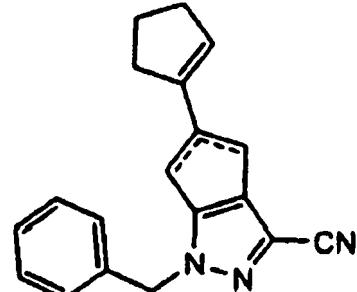
50

Preparación de 1-bencil-5-ciclopent-1-enil-1,6-dihidro-ciclopentapirazol-3-carbonitrilo y 1-bencil-5-ciclopent-1-enil-1,4-dihidro-ciclopentapirazol-3-carbonitrilo (mezcla)

55

60

65



A una solución del intermedio éster trifluorometanosulfónico indicado en el Ejemplo 9.8 (185 mg, 0,501 mmoles) en 1,4-dioxano se añadió ácido ciclopentén-1-il-borónico (62 mg, 0,551 mmoles), fosfato de potasio (160 mg, 0,751

mmoles) y tetraquis trifenil fosfina-paladio (0). La mezcla de reacción se calentó hasta 85°C. Tras completar la reacción, se diluyó con acetato de etilo, se lavó con NaOH 1 N y solución hipersalina, y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. La solución se filtró y se concentró en el vacío. El residuo se purificó en el cromatotróner utilizando un rotor de 2.000 micrómetros (SiO₂) y acetato de etilo al 20%-hexanos como eluyente.

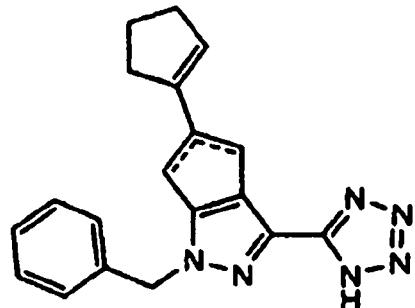
5

Etapa B

Preparación de 1-bencil-5-ciclopent-1-enil-3-(1H-tetrazol-5-il)-1,6-dihidro-ciclopentapirazol y 1-bencil-5-ciclopent-1-enil-3-(1H-tetrazol-5-il)-1,4-dihidro-ciclopentapirazol (mezcla)

10

15



20

25

El compuesto se preparó a partir del intermedio obtenido en la etapa A anterior mediante un procedimiento similar al descrito en el Ejemplo 9.8, etapa B.

Etapa C

5-ciclopentil-3-(1H-tetrazol-5-il)-1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol (compuesto nº 13)

30

35

A una solución del intermedio de la etapa B (16 mg, 0,048 mmoles) en metanol (2 ml) se añadió ácido fórmico (200 µl). Se añadió negro de paladio (8,2 mg, 0,078 mmoles) y la mezcla resultante se purgó con nitrógeno y se agitó durante 24 horas. Se añadió otra parte de negro de paladio (8,2 mg, 0,078 mmoles). Tras agitar durante 48 horas, la reacción se filtró, se concentró en el vacío, y se purificó mediante HPLC de fase reversa, proporcionando el compuesto del título. ¹H RMN (CD₃OD, 500 MHz) δ 3,1-2,9 (m, 2H), 2,6 (m, 2H), 2,03 (m, 2H), 1,87 (m, 2H), 1,63 (m, 2H), 1,59 (m, 2H), 1,28 (m, 2H). LC-MS: 2,99 minutos; (M+H)=245,45.

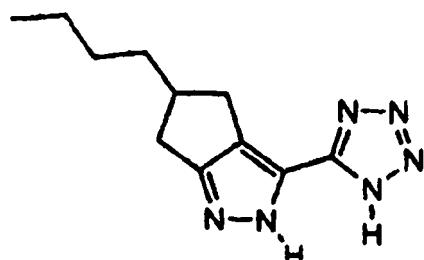
40

45

50

Ejemplo 9.15

Butil-3-(1H-tetrazol-5-il)-2,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol (compuesto nº 8)



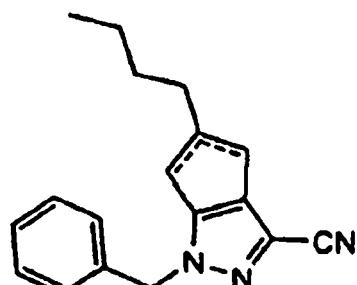
Etapa A

55

60

65

Preparación de 1-bencil-5-butil-1,6-dihidro-ciclopentapirazol-3-carbonitrilo y 1-bencil-5-butil-1,4-dihidro-ciclopentapirazol-3-carbonitrilo (mezcla)

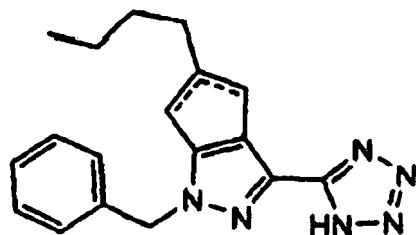


ES 2 267 077 T3

A una solución del intermedio éster trifluorometanosulfónico descrita en el Ejemplo 9.8 (180 mg, 0,486 mmoles) en tolueno (3 ml), se añadió ácido n-butil borónico (99 mg, 0,973 mmoles), K₂CO₃ (201 mg, 1,46 mmoles), PdCl₂ (ddpf) 2 (12 mg, 0,0146 mmoles) y Ag₂O (225 mg, 0,973 mmoles). Tras someter a reflujo la mezcla de reacción durante 6 horas, se enfrió hasta la temperatura ambiente y se filtró. El residuo se concentró en el vacío y se purificó en el 5 cromatógrón utilizando un rotor de 2.000 micrómetros (SiO₂) y acetato de etilo al 5%-acetato de etilo al 20%-hexanos como eluyente, proporcionando el producto deseado (52 mg).

Etapa B

10 *Preparación de 1-bencil-5-butil-3-(1*H*-tetrazol-5-il)-1,6-dihidro-ciclopentapirazol y 1-bencil-5-butil-3-(1*H*-te-
trazol-5-il)-1,4-dihidro-ciclopentapirazol (mezcla)*



El compuesto se preparó a partir del intermedio obtenido en la Etapa A anterior mediante un procedimiento similar al descrito en el Ejemplo 9.8, etapa B.

Etapa C

*5-butyl-3-(1*H*-tetrazol-5-il)-2,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol (compuesto nº 8)*

30 El compuesto se preparó a partir del intermedio obtenido en la Etapa B anterior mediante un procedimiento similar al descrito en el Ejemplo 5, etapa C. ¹H RMN (CD₃OD, 500 MHz) δ 3,1 (m, 2H), 2,9 (m, 1H), 2,5 (m, 2H), 1,6 (m, 2H), 1,4 (m, 4H), 0,9 (t, J=7,0 Hz, 3H). LC-MS: 2,86 minutos; (M+H)=233,34.

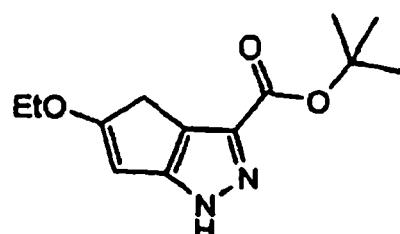
Ejemplo 9.16

35 *5-metil-3-(1*H*-tetrazol-5-il)-2,6-dihidro-ciclopentapirazol (compuesto nº 9) y 5-metil-3-(1*H*-tetrazol-5-il)-2,4-dihidro-ciclopentapirazol (compuesto nº 10)*



Etapa A

50 *Preparación terc-butil éster de ácido 5-etoxy-1,4-dihidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico*



65 A una solución de etanol (5 ml) del cetoéster (254 mg, 1,0 mmol) preparada a partir de 3-ethoxy ciclopentenona, tal como en la etapa A del Ejemplo 9.8 anterior, se añadió hidrato de hidrazina (34 µl, 1,1 mmoles) seguido de ácido acético (0,5 ml). Tras someter a reflujo la mezcla de reacción durante 1,5 horas, se enfrió hasta la temperatura ambiente y se concentró en el vacío. El residuo se suspendió en agua y se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhídrico, se filtró y se concentró en el vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía flash (SiO₂) utilizando acetato de etilo al 25%-hexanos, proporcionando el producto deseado en forma de sólido blanco.

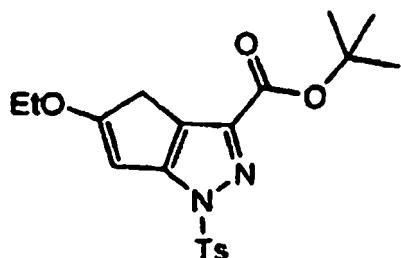
ES 2 267 077 T3

Etapa B

Preparación de terc-butil éster de ácido 5-etoxi-1-(tolueno-4-sulfonil)-1,4-dihidrociclopentapirazol-3-carboxílico

5

10



15

A un solución del intermedio pirazol de la etapa A (275 mg, 1,1 mmoles) anterior en CH₂Cl₂ (5 ml) se añadió piridina (178 μ l, 2,2 mmoles) y cloruro de p-tolueno sulfonilo (230 mg, 1,21 mmoles). Tras agitar la mezcla de reacción resultante a temperatura ambiente durante 3 horas, se diluyó con CH₂Cl₂, se lavó con HCl 1 N, solución saturada de NaHCO₃, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró en el vacío. El residuo se purificó mediante 20 chromatografía flash (SiO₂) utilizando acetato de etilo al 10%-hexanos.

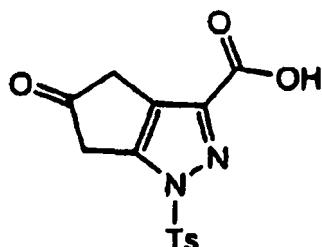
20

Etapa C

Preparación de ácido 5-oxo-1-(tolueno-4-sulfonil)-1,4,5,6-tetrahidrociclopentapirazol-3-carboxílico

25

30



35

40

A una solución del intermedio de la etapa B anterior (414 mg, 1,02 mmoles) en CH₂Cl₂ (2 ml) se añadió ácido trifluoroacético (2 ml). Tras agitar la reacción a temperatura ambiente durante 1,5 horas, se concentró en el vacío y se formó una mezcla azeotrópica con tolueno (2X). Este material se utilizó en la etapa siguiente sin ninguna purificación adicional.

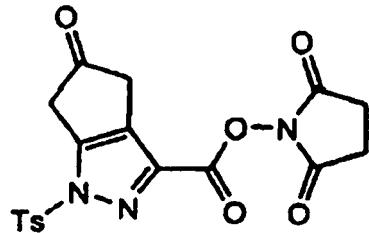
Etapa D

45

Preparación de 2,5-dioxo-pirrolidón-1-il éster de ácido 5-oxo-1-(tolueno-4-sulfonil)-1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico

50

55



60

A una solución del intermedio de la etapa C anterior (320 mg, 1,0 mmol) en CH₂Cl₂ (20 ml) se añadió N-hidroximuccinimida (230 mg, 2,0 mmoles) seguido de EDC (384 mg, 2,0 mmoles). Tras agitar a temperatura ambiente durante 18 horas, la mezcla de reacción se concentró en el vacío. El residuo se diluyó con acetato de etilo (20 ml), se lavó con solución saturada de NaHCO₃ y con solución hipersalina. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró en el vacío. Se obtuvo un sólido amarillo.

65

ES 2 267 077 T3

Etapa E

Preparación de amida de ácido 5-oxo-1-(tolueno-4-sulfonil)-1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico

5

10

15

A una solución del intermedio de la etapa D anterior (380 mg, 0,91 mmoles) en 1,4-dioxano (10 ml) se añadió NH₄OH (14,8 N, 10,0 eq., 0,61 ml). Se formó inmediatamente un precipitado. Tras agitar a temperatura ambiente durante 15 minutos, la mezcla de reacción se filtró a través de un embudo sinterizado y el precipitado se lavó con 1,4-dioxano. El filtrado se concentró en el vacío, proporcionando un aceite amarillo.

Etapa F

Preparación de 5-oxo-1-(tolueno-4-sulfonil)-1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-carbonitrilo

25

30

35

A una solución del intermedio de la etapa E anterior (0,91 mmoles) en DMF anhídrico (5 ml) se añadió cloruro cianúrico (334 mg, 2,0 mmoles) en dos partes. Tras agitar a temperatura ambiente durante 15 minutos, la reacción se detuvo vertiendo agua (10 ml). La mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo, se lavó con solución saturada de NaHCO₃, con solución hipersalina, se secó sobre Na₂SO₄ anhídrico, se filtró y se concentró en el vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía flash (SiO₂) utilizando acetato de etilo al 25%-hexanos. Se obtuvo un sólido blanco.

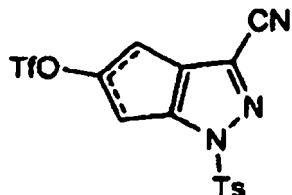
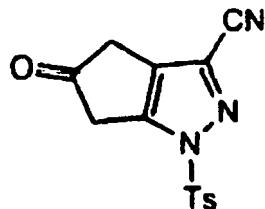
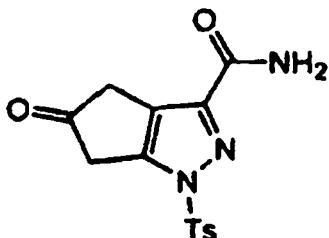
Etapa G

Preparación de 3-ciano-1-(tolueno-4-sulfonil)-1,6-dihidro-ciclopentapirazol-5-il éster de ácido trifluorometansulfónico y de 3-ciano-1-(tolueno-4-sulfonil)-1,4-dihidro-ciclopentapirazol-5-il éster de ácido trifluorometanosulfónico (mezcla)

50

55

65



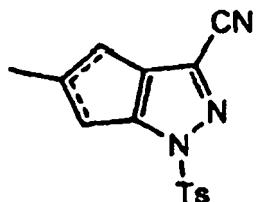
A una solución del intermedio de la etapa F (100 mg, 0,33 mmoles) en THF anhídrico (5 ml) a -78°C se añadió una solución de diisopropilamida de litio (0,33 mmoles, 166 µl, 2,0 M en THF) en THF (6 ml). Tras agitar la reacción a -78°C durante 30 minutos, se añadió 2[N,N-bis(trifluorometilsulfonil)amina]-5-cloropiridina (195 mg, 0,496 mmoles). La reacción se calentó a 0°C y se agitó durante 45 minutos. La reacción se detuvo con solución 1 N de HCl, y la mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo, se lavó con solución saturada de NaHCO₃ y se secó sobre Na₂SO₄ anhídrico. La solución se filtró y se concentró en el vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía flash (SiO₂) utilizando acetato de etilo al 5%-hexanos como eluyente, proporcionando 79 mg del producto deseado en forma de mezcla 4:1 de regiosímeros de doble enlace.

Etapa H

Preparación de 5-metil-1-(tolueno-4-sulfonil)-1,6-dihidro-ciclopentapirazol-3-carbonitrilo y de 5-metil-1-(tolueno-4-sulfonil)-1,4-dihidro-ciclopentapirazol-3-carbonitrilo (mezcla)

5

10



15

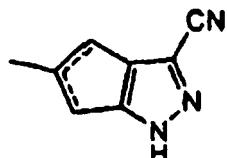
A una solución del intermedio de la etapa G anterior (79 mg, 0,182 mmoles) en tolueno (1,5 ml) se añadió cloruro de litio (39 mg, 0,912 mmoles), tetrametil estaño (126 μ l, 0,912 mmoles) y tetraquis trifenil fosfina-paladio (0). Tras someter a reflujo la mezcla de reacción durante 45 minutos, se enfrió hasta la temperatura ambiente, se diluyó con acetato de etilo y se lavó con agua. La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4 anhidro y se concentró en el vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía flash (SiO_2) utilizando acetato de etilo al 30%-hexanos, proporcionando el producto deseado (28 mg).

20

Etapa I

Preparación de 5-metil-1,6-dihidro-ciclopentapirazol-3-carbonitrilo y 5-metil-1,4-dihidro-ciclopentapirazol-3-carbonitrilo (mezcla)

30



35

A una solución del intermedio de la etapa H anterior (28 mg, 0,093 mmoles) en THF anhidro (3 ml) se añadió fluoruro de tetrabutilamonio (93 μ l, 0,093 mmoles, 1,0 M en THF). Tras someter a reflujo la mezcla de reacción durante 30 minutos, se enfrió hasta la temperatura ambiente y se concentró en el vacío. El residuo se disolvió en acetato de etilo, se lavó con solución saturada de NaHCO_3 , con solución hipersalina, y se seco sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró en el vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía flash (SiO_2) utilizando acetato de etilo al 30%-hexanos, proporcionando un sólido blanco.

40

Etapa J

*5-metil-3-(1*H*-tetrazol-5-il)-2,6-dihidro-ciclopentapirazol (compuesto nº 9) y 5-metil-3-(1*H*-tetrazol-5-il)-2,4-dihidro-ciclopentapirazol (compuesto nº 10)*

A una solución del intermedio de la etapa I anterior (9,0 mg, 0,062 mmoles) en 2-propanol (1 ml) se añadió agua (0,5 ml), azida sódica (12 mg, 0,186 mmoles) y bromuro de cinc (6,5 mg, 0,031 mmoles). Tras calentar la mezcla de reacción a 90°C durante 18 horas, se enfrió hasta la temperatura ambiente y se añadió HCl (1,5 ml, 3 N). La mezcla de reacción se extrajo con acetato de etilo, se lavó con solución hipersalina, se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró en el vacío, proporcionando el producto deseado en forma de proporción 2:1 de regiosímeros de doble enlace. Isómero (a): ^1H RMN (CD_3OD , 500 MHz) δ 6,43 (bs, 1H), 3,3 (s, 2H), 2,2 (s, 3H). Isómero (b): ^1H RMN (CD_3OD , 500 MHz) δ 6,58 (bs, 1H), 3,24 (s, 2H), 2,156 (s, 3H). LC-MS: 1,86 minutos ($\text{M}+\text{H}$)=189,1.

55

A lo largo de la presente solicitud, se citan diversas publicaciones, patentes y solicitudes de patentes publicadas con el fin de describir y dar a conocer más completamente la invención y el estado de la técnica a la que se refiere la invención.

60

Aunque se encuentran disponibles para los expertos en la materia una diversidad de vectores de expresión, para los fines de utilización para los GPCR humanos endógenos y no endógenos, resulta más preferente que el vector utilizado sea pCMV. Este vector ha sido depositado en la American Type Culture Collection (ATCC) el 13 de octubre de 1998 (10801 University Blvd., Manassas, VA 20110-2209, USA) bajo las disposiciones del Tratado de Budapest sobre el reconocimiento internacional del depósito de microorganismos a los fines del procedimiento en materia de patentes. El ADN fue sometido a ensayo por la ATCC y se determinó que era viable. La ATCC ha asignado el número de depósito siguiente a pCMV: ATCC nº 203351.

REIVINDICACIONES

1. Compuesto de Fórmula (I):

5

10

15

20 en la que:

X es NH u O;

25 R₁ se selecciona de entre:

H,

halógeno,

30 hidroxi,

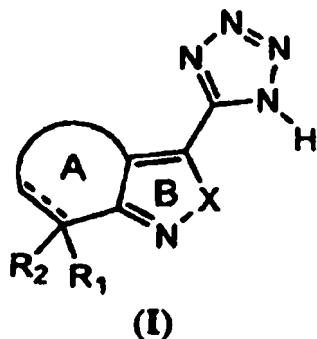
tioxi,

35 ciano,

nitro,

haloalquilo C₁₋₄,

40 amino,

alquilamino C₁₋₄,45 dialquilamino C₂₋₈,alquilo C₁₋₄,alcoxi C₁₋₄,50 alquenilo C₂₋₄,alquinilo C₂₋₄,55 cicloalquilo C₃₋₅,haloalcoxi C₁₋₄,alquiltio C₁₋₄,60 alquilsulfinilo C₁₋₄,alquilsulfonilo C₁₋₄,65 haloalquiltio C₁₋₄,haloalquilsulfinilo C₁₋₄, y

ES 2 267 077 T3

haloalquilsulfonilo C₁₋₄;

R₂ se selecciona de entre:

- 5 H,
halógeno,
hidroxi,
10 tioxi,
ciano,
15 nitro,
haloalquilo C₁₋₄,
amino,
20 alquilamino C₁₋₄,
dialquilamino C₂₋₈,
25 alquilo C₁₋₄,
alcoxi C₁₋₄,
alquenilo C₂₋₄,
30 alquinilo C₂₋₄,
cicloalquilo C₃₋₅,
35 haloalcoxi C₁₋₄,
alquiltio C₁₋₄
40 alquilsulfinilo C₁₋₄,
alquisulfonilo C₁₋₄,
haloalquitio C₁₋₄,
45 haloalquilsulfinilo C₁₋₄, y
haloalquilsulfonilo C₁₋₄;

o R₂ se encuentra ausente;

50 — es un enlace sencillo cuando R₂ se encuentra presente, o

— es un enlace doble cuando R₂ se encuentra ausente, y

55 el anillo A es un anillo carbocíclico de 5 elementos o un anillo heterocíclico de 5 elementos,

en el que “anillo carbocíclico de 5 elementos” se refiere a un anillo que contiene 5 carbonos anulares, en el que dos carbonos anulares son compartidos por los anillos A y B, y

60 en el que “anillo heterocíclico de 5 elementos” se refiere a un anillo carbocíclico de 5 elementos, en el que 1, 2 ó 3 carbonos anulares no compartidos por los anillos A y B se sustituyen independientemente por -O-, -S-, -S(O)- o -S(O)₂-, y en el que el anillo A se sustituye opcionalmente con 1 a 4 sustituyentes seleccionados de entre:

- 65 halógeno,
hidroxi,
tioxi,

- ciano,
nitro,
haloalquilo C₁₋₄,
amino,
alquilamino C₁₋₄,
dialquilamino C₂₋₈,
alquilo C₁₋₄,
alcoxi C₁₋₄,
alquenilo C₂₋₄,
alquinilo C₂₋₄,
cicloalquilo C₃₋₅,
haloalcoxi C₁₋₄,
alquiltio C₁₋₄,
alquilsulfinilo C₁₋₄,
alquisulfonilo C₁₋₄,
haloalquitio C₁₋₄,
haloalquilsulfinilo C₁₋₄, y
haloalquilsulfonilo C₁₋₄;
o una sal, solvato o hidrato farmacéuticamente aceptable de los mismos.
2. Compuesto según la reivindicación 1, en el que el anillo A es un anillo carbocíclico de 5 elementos.
3. Compuesto según la reivindicación 1, en el que el anillo A es un anillo heterocíclico de 5 elementos.
4. Compuesto según la reivindicación 1, en el que el anillo A es un anillo heterocíclico de 5 elementos, en el que “anillo heterocíclico de 5 elementos” se refiere a un anillo carbocíclico de 5 elementos en el que 1 carbono anular no compartido por los anillos A y B se sustituye independientemente por -O-, -S-, -S(O)- o -S(O)₂-.
5. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que:
X es NH;
R₁ es H o hidroxi;
R₂ es H o se encuentra ausente;
— es un enlace sencillo cuando R₂ es H, o
— es un enlace doble cuando R₂ se encuentra ausente, y
el anillo A es un anillo carbocíclico de 5 elementos o un anillo heterocíclico de 5 elementos opcionalmente sustituido con 1 a 4 sustituyentes seleccionados de entre:
halógeno,
alquilo C₁₋₄,
alcoxi C₁₋₄, y
cicloalquilo C₃₋₅, o una sal, solvato o hidrato farmacéuticamente aceptable de los mismos.

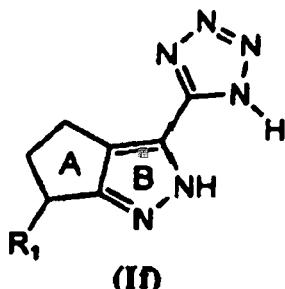
ES 2 267 077 T3

6. Compuesto según la reivindicación 1 ó 2, que presenta la fórmula (If):

5

10

15



en la que:

20 R₁ es H o hidroxi, y

el anillo A se encuentra opcionalmente sustituido con 1 ó 2 sustituyentes seleccionados de entre:

halógeno,

25 alquilo C₁₋₄,

alcoxi C₁₋₄, y

30 cicloalquilo C₃₋₅,

o una sal, solvato o hidrato farmacéuticamente aceptable de los mismos.

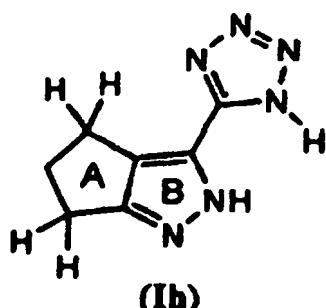
7. Compuesto según la reivindicación 1 ó 2 que presenta la Fórmula (Ih):

35

40

45

50



en la que:

55 el anillo A se encuentra opcionalmente sustituido con 1 ó 2 sustituyentes seleccionados de entre:

halógeno,

alquilo C₁₋₄,

60 alcoxi C₁₋₄, y

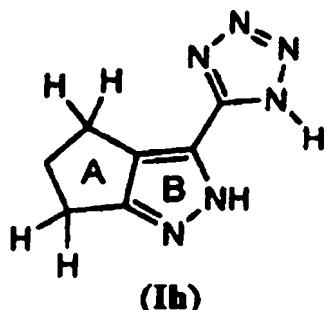
cicloalquilo C₃₋₅,

o una sal, solvato o hidrato farmacéuticamente aceptable de los mismos.

65

ES 2 267 077 T3

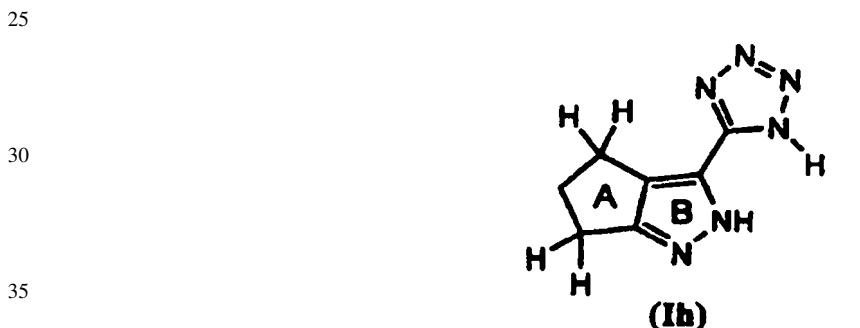
8. Compuesto según la reivindicación 1 ó 2, que presenta la Fórmula (Ih):



en la que:

- 20 el anillo A se encuentra no sustituido o sustituido con etilo;
o una sal, solvato o hidrato farmacéuticamente aceptable de los mismos.

9. Compuesto según la reivindicación 1 ó 2, que presenta la Fórmula (Ih):



40 en la que:

el anillo A se encuentra sustituido con 1 ó 2 sustituyentes seleccionados de entre:

halógeno,

45 n-propilo,

n-butilo,

50 alcoxi C₁₋₄, y

cicloalquilo C₃₋₅,

o una sal, solvato o hidrato farmacéuticamente aceptable de los mismos.

55 10. Compuesto según la reivindicación 1, que es:

3-(1H-tetrazol-5-il)-2,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol

60 o una sal, solvato o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo.

11. Compuesto según la reivindicación 1, que es:

65 3-(1H-tetrazol-5-il)-2,6-dihidro-4H-tieno[3,4-c]pirazol,

o una sal, solvato o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo.

12. Comuesto según la reivindicación 1, que es:

6-metil-3-(1H-tetrazol-5-il)-2,6-dihidro-4H-furo[3,4-c]pirazol,

5 o una sal, solvato o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo.

13. Comuesto según la reivindicación 1, que es:

10 3-(1H-tetrazol-5-il)-2,4-dihidro-ciclopentapirazol,

o una sal, solvato o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo.

15 14. Comuesto según la reivindicación 1, que es:

3-(1H-tetrazol-5-il)-2,6-dihidro-ciclopentapirazol,

o una sal, solvato o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo.

20

15. Comuesto según la reivindicación 1, que es:

3-(1H-tetrazol-5-il)-2,6-dihidro-4H-furo[3,4-c]pirazol,

25

o una sal, solvato o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo.

16. Comuesto según la reivindicación 1, que es:

30

5-etil-3-(1H-tetrazol-5-il)-2,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol,

o una sal, solvato o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo.

35

17. Comuesto según la reivindicación 1, que es:

5-butil-3-(1H-tetrazol-5-il)-2,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol,

40

o una sal, solvato o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo.

18. Comuesto según la reivindicación 1, que es:

45

5-metil-3-(1H-tetrazol-5-il)-2,6-dihidro-ciclopentapirazol,

o una sal, solvato o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo.

40

19. Comuesto según la reivindicación 1, que es:

50

5-metil-3-(1H-tetrazol-5-il)-2,4-dihidro-ciclopentapirazol,

o una sal, solvato o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo.

55

20. Comuesto según la reivindicación 1, que es:

5-propil-3-(1H-tetrazol-5-il)-2,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol,

60

o una sal, solvato o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo.

55

21. Comuesto según la reivindicación 1, que es:

65

5-propoxi-3-(1H-tetrazol-5-il)-2,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol,

o una sal, solvato o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo.

ES 2 267 077 T3

22. Compuesto según la reivindicación 1, que es:

5-ciclopentil-3-(1H-tetrazol-5-il)-2,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapiroazol,

5 o una sal, solvato o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo.

23. Compuesto según la reivindicación 1, que es:

10 5-fluoro-3-(1H-tetrazol-5-il)-2,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapiroazol,

o una sal, solvato o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo.

15 24. Compuesto según la reivindicación 1, que es:

5-isobutoxi-3-(1H-tetrazol-5-il)-2,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapiroazol,

20 o una sal, solvato o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo.

25 25. Compuesto según la reivindicación 1, que es:

5-butoxi-3-(1H-tetrazol-5-il)-2,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapiroazol,

25 o una sal, solvato o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo.

30 26. Compuesto según la reivindicación 1, que es:

3-(1H-tetrazol-5-il)-2,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapiroazol-6-ol,

o una sal, solvato o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo.

35 27. Compuesto según la reivindicación 1, que es:

5-metoxi-3-(1H-tetrazol-5-il)-2,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapiroazol,

40 o una sal, solvato o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo.

45 28. Compuesto según la reivindicación 1, que es:

5,5-difluoro-3-(1H-tetrazol-5-il)-2,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapiroazol,

45 o una sal, solvato o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo.

50 29. Compuesto según la reivindicación 1, que es:

5-etoxi-3-(1H-tetrazol-5-il)-2,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapiroazol,

o una sal, solvato o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo.

55 30. Composición farmacéutica que comprende un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 29, en combinación con un portador farmacéuticamente aceptable.

60 31. Procedimiento para producir una composición farmacéutica, que comprende mezclar un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 29, y un portador farmacéuticamente aceptable.

32. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 29, para la utilización en un procedimiento de tratamiento del cuerpo humano o animal mediante terapia.

65 33. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 29, para la utilización en un procedimiento de tratamiento de un trastorno relacionado con el metabolismo del cuerpo humano o animal mediante terapia.

34. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 29, para la utilización en un procedimiento de tratamiento de un trastorno relacionado con el metabolismo del cuerpo humano o animal mediante terapia, en el que

ES 2 267 077 T3

el trastorno relacionado con el metabolismo se selecciona de entre: dislipidemia, aterosclerosis, enfermedad cardíaca coronaria, resistencia a la insulina y diabetes de tipo 2.

5 35. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 29, para utilizar en un procedimiento de tratamiento de la aterosclerosis del cuerpo humano o animal mediante terapia.

36. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 29, para utilizar en un procedimiento de desarrollo de HDL del cuerpo humano o animal mediante terapia.

10 37. Utilización de un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 29, para la fabricación de un medicamento para utilizar en el tratamiento de un trastorno relacionado con el metabolismo.

15 38. Utilización de un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 29, para la fabricación de un medicamento para utilizar en el tratamiento de un trastorno relacionado con el metabolismo seleccionado de entre: dislipidemia, aterosclerosis, enfermedad cardíaca coronaria, resistencia a la insulina y diabetes de tipo 2.

39. Utilización de un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 29, para la fabricación de un medicamento para la utilización en el tratamiento de la aterosclerosis.

20 40. Utilización de un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 29, para la fabricación de un medicamento para la utilización en el desarrollo de HDL en un individuo.

25

30

35

40

45

50

55

60

65