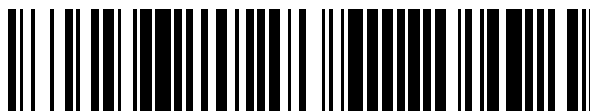


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 621 787**

51 Int. Cl.:

C07D 401/14 (2006.01)
C07D 403/14 (2006.01)
C07D 413/14 (2006.01)
C07D 417/14 (2006.01)
A61K 31/41 (2006.01)
A61K 31/435 (2006.01)
A61K 31/495 (2006.01)
A61P 7/00 (2006.01)
A61P 9/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.10.2007 E 11175197 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.01.2017 EP 2383269**

54 Título: **Dihidropirazononas sustituidas para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares**

30 Prioridad:

26.10.2006 DE 102006050516

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

05.07.2017

73 Titular/es:

**BAYER INTELLECTUAL PROPERTY GMBH
(100.0%)
Alfred-Nobel-Strasse 10
40789 Monheim, DE**

72 Inventor/es:

**THEDE, KAI;
FLAMME, INGO;
OEHME, FELIX;
ERGÜDEN, JENS-KERIM;
STOLL, FRIEDERIKE;
SCHUHMACHER, JOACHIM;
WILD, HANNO;
KOLKHOF, PETER;
BECK, HARTMUT;
KELDENICH, JÖRG;
AKBABA, METIN y
JESKE, MARIO**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 621 787 T3

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

DESCRIPCIÓN

Dihidropirazonas sustituidas para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares

La presente solicitud se refiere a nuevos derivados de dihidropirazonas sustituidas, a procedimientos para su preparación, a su uso para el tratamiento y/o la prevención de enfermedades, así como a su uso para la preparación de medicamentos para el tratamiento y/o la prevención de enfermedades, particularmente de enfermedades cardiovasculares y hematológicas, de enfermedades renales, así como para la potenciación de la curación de heridas.

Un suministro insuficiente de oxígeno al organismo humano o partes del mismo que perjudique por su duración y/o su magnitud un funcionamiento regular del organismo o partes partes del mismo, o que paralice completamente su funcionamiento, se designa como hipoxia. Puede causarse una hipoxia mediante una reducción del oxígeno disponible en el aire respirable (por ejemplo, en estancias a gran altura), mediante alteraciones de la respiración externa (por ejemplo, como resultado de un funcionamiento alterado de los pulmones o desplazamiento de las vías respiratorias), mediante una reducción del volumen de gasto cardíaco (por ejemplo, en una insuficiencia cardíaca, una sobrecarga aguda del corazón derecho en embolia pulmonar), mediante una baja capacidad de transporte de oxígeno de la sangre (por ejemplo, como resultado de una anemia o intoxicación, por ejemplo con monóxido de carbono), localmente limitada por un flujo sanguíneo reducido como resultado de oclusiones vasculares (estados de isquemia, normalmente por ejemplo del corazón, de las extremidades inferiores o del cerebro, macroangiopatía y microangiopatía diabéticas) o también mediante una demanda de oxígeno elevada del tejido (por ejemplo, como resultado de un trabajo muscular elevado o inflamaciones locales) [Eder, Gedigk (Ed.) "Allgemeine Pathologie und pathologische Anatomie", 33ª ed., Springer Verlag, Berlín, 1990].

El organismo humano es limitadamente capaz de adaptarse a situaciones agudas y crónicas de suministro de oxígeno reducido. Además de una respuesta inmediata, que incluye entre otros un aumento del volumen de gasto cardíaco y del volumen de gasto respiratorio mediante mecanismos de control vegetativo-nervioso, así como un ensanchamiento local de los vasos sanguíneos, la hipoxia lleva tras de sí una alteración de la transcripción de numerosos genes. La función de los productos génicos sirve de este modo para la compensación de la falta de oxígeno. Así, se expresan amplificada varias enzimas de la glicólisis y el transportador de glucosa 1, con lo que aumenta la obtención de ATP anaeróbico y se posibilita la supervivencia a la falta de oxígeno [Schmidt, Thews (Ed.), "Physiologie des Menschen", 27ª ed., Springer Verlag, Berlín, 1997; Löffler, Petrides (Ed.), "Biochemie und Pathobiochemie", 7ª ed., Springer Verlag, Berlín, 2003].

Además, la hipoxia conduce a una expresión amplificada del factor de crecimiento de células endoteliales vasculares, VEGF, con lo que se estimula la regeneración de vasos sanguíneos (angiogénesis) en tejidos hipóxicos. De este modo, se mejora a largo plazo la circulación sanguínea de tejidos isquémicos. En distintas enfermedades cardiocirculatorias y enfermedades de oclusión de vasos, se realiza esta contrarregulación aparentemente sólo muy insuficientemente [revisión en: Simons y Ware, "Therapeutic angiogenesis in cardiovascular disease", Nat. Rev. Drug Discov. 2(11), 863-871 (2003)].

Además, en la hipoxia sistémica se expresa amplificada la hormona peptídica eritropoyetina formada predominantemente en los fibroblastos intersticiales de los riñones. De este modo, se estimula la formación de eritrocitos en la médula ósea y por tanto aumenta la capacidad de transporte de oxígeno de la sangre. Este efecto se ha usado y se usa por parte de deportistas de competición en el denominado entrenamiento en altura. Una reducción de la capacidad de transporte de oxígeno de la sangre, por ejemplo como resultado de una anemia sanguínea, causa normalmente un aumento de la producción de eritropoyetina en los riñones. En determinadas formas de anemia, este mecanismo regulador puede estar alterado o su valor de referencia puede estar ajustado a la baja. Así, por ejemplo en pacientes que padecen una insuficiencia renal, la eritropoyetina se produce ciertamente en el parénquima renal, pero en cantidades claramente reducidas respecto a la capacidad de transporte de oxígeno de la sangre, lo que tiene como resultado la denominada anemia renal. Particularmente, la anemia renal, pero también las anemias causadas por tumores e infección por VIH, se tratan habitualmente mediante la administración parenteral de eritropoyetina humana recombinante (rhEPO). Actualmente no existe ninguna terapia alternativa a esta costosa terapia con un medicamento disponible por vía oral [revisiones en: Eckardt, "The potential of erythropoietin and related strategies to stimulate erythropoiesis", Curr. Opin. Investig. Drugs 2(8), 1081-1085 (2001); Berns, "Should the target hemoglobin for patients with chronic kidney disease treated with erythropoietic replacement therapy be changed?", Semin. Dial. 18(1), 22-29 (2005)]. Investigaciones anteriores han reseñado que la eritropoyetina ejerce, además de su efecto aumentador de la eritropoyesis, también un efecto independiente del mismo protector (antiapoptótico) de tejidos hipóxicos, particularmente de corazón y cerebro. Además, una terapia con eritropoyetina reduce el grado medio de morbilidad-gravedad según nuevos estudios en pacientes con insuficiencia cardíaca [revisiones en: Caiola y Cheng, "Use of erythropoietin in heart failure management", Ann. Pharmacother. 38(12), 2145-2149 (2004); Katz, "Mechanisms and treatment of anemia in chronic heart failure", Congest. Heart Fail. 10(5), 243-247 (2004)].

En los genes inducidos por hipoxia anteriormente descritos, es común que el aumento de su expresión bajo hipoxia esté causado por el denominado factor de transcripción inducible por hipoxia (HIF). En HIF, se trata de un factor de transcripción heterodimérico que está compuesto por una subunidad alfa y una beta. Se han descrito tres isoformas

de HIF-alfa, de las que HIF-1 alfa y HIF-2 alfa son altamente homólogas y de importancia para la expresión génica inducida por hipoxia. Aunque la subunidad beta también designada como ARNT (translocador nuclear de receptor de arilhidrocarburo) (de la que se han descrito dos isoformas) se expresa constitutivamente, la expresión de la subunidad alfa depende del contenido de oxígeno en las células. Bajo normoxia, se poliubiquitina la proteína HIF-alfa y a continuación se degrada proteosómicamente. Bajo hipoxia, se inhibe esta degradación, de modo que HIF-alfa dimeriza con ARNT y puede activar su gen diana. El dímero de HIF se une a este respecto a los denominados elementos responsables de la hipoxia (HRE) en las secuencias reguladoras de su gen diana. Los HRE se definen mediante una secuencia consenso. Se han detectado HRE funcionales en los elementos reguladores de numerosos genes inducidos por hipoxia [revisiones en: Semenza, "Hypoxia-inducible factor 1: oxygen homeostasis and disease pathophysiology", Trends Mol. Med. 7(8): 345-350 (2001); Wenger y Gassmann, "Oxygen(es) and the hypoxia-inducible factor-1", J. Biol. Chem. 378(7), 609-616 (1997)].

El mecanismo molecular en que se basa esta regulación de HIF-alfa se ha esclarecido gracias al trabajo de varios grupos de investigación independientes entre sí. El mecanismo está conservado entre especies: la HIF-alfa se hidroxila por una subclase de prolil-4-hidroxilasas dependientes de oxígeno designada como PHD o EGLN en dos restos prolilo específicos (P402 y P564 de la subunidad HIF-1 alfa humana). En las HIF-prolil-4-hidroxilasas, se trata de dioxigenasas de reacción con 2-oxoglutarato dependientes de hierro [Epstein y col., "C. elegans EGL-9 and mammalian homologs define a family of dioxygenases that regulate HIF by prolyl hydroxylation", Cell 107(1), 43-54 (2001); Bruick y McKnight, "A conserved family of prolyl-4-hydroxylases that modify HIF", Science 294 (5545), 1337-1340 (2001); Ivan y col., "Biochemical purification and pharmacological inhibition of a mammalian prolyl hydroxylase acting on hypoxia-inducible factor", Proc. Natl. Acad. Sci. USA 99(21), 13459-13464 (2002)]. Las enzimas se apuntaron en primer lugar en 2001 como prolilhidroxilasas [Aravind y Koonin, "The DNA-repair protein AlkB, EGL-9 and leprecan define new families of 2-oxoglutarate- and iron-dependent dioxygenases", Genome Biol. 2(3), research0007.1-0007.9, Epub 19 de feb de 2001].

Se une a la subunidad HIF-alfa prolilhidroxilada la proteína supresora tumoral pVHL que, junto con elongina B y C, forma el denominado complejo VBC, que adapta la subunidad HIF-alfa en una ubiquitina-ligasa E3. Ya que la prolil-4-hidroxilación de la subunidad HIF-alfa y su posterior degradación se realizan dependiendo de la concentración intracelular de oxígeno, se han designado también las HIF-prolil-4-hidroxilasas como sensores de oxígeno celulares. Se ha identificado tres isoformas de esta enzima: EGLN1/PHD2, EGLN2/PHD1 y EGLN3/PHD3. Dos de estas enzimas (EGLN2/PHD1 y EGLN3/PHD3) se inducen transcripcionalmente ellas mismas bajo hipoxia y son posiblemente responsables de la reducción del nivel de HIF-alfa observada bajo hipoxia crónica (revisión en: Schofield y Ratcliffe, "Oxygen sensing by HIF hydroxylases", Nat. Rev. Mol. Cell. Biol. 5(5): 343-354 (2004)].

Una inhibición farmacológica selectiva de las HIF-4-prolilhidroxilasas lleva tras de sí el aumento de la expresión génica del gen diana dependiente de HIF, y es por tanto de utilidad para la terapia de numerosos cuadros patológicos. Particularmente en enfermedades del sistema cardiocirculatorio, ha de esperarse una mejora del curso de la enfermedad por la inducción de nuevos vasos sanguíneos así como por la modificación de la situación metabólica en órganos sistémicos de obtención de ATP aeróbica a anaeróbica. Una mejora de la vascularización de heridas crónicas potencia el proceso de curación, particularmente en úlceras de la pierna de difícil curación y otras heridas cutáneas crónicas. La inducción de eritropoyetina endógena en determinadas variantes patológicas, particularmente en pacientes con anemia renal, es igualmente un objetivo terapéutico a perseguir.

Los inhibidores de HIF-prolil-4-hidroxilasa descritos hasta ahora en la literatura científica no satisfacen los requisitos exigidos a un medicamento. Se trata en este sentido de análogos competitivos de oxoglutarato (como, por ejemplo, N-oxalilglicina), que se caracterizan por su muy baja potencia y por tanto no han mostrado hasta ahora en modelos *in vivo* ningún efecto en el sentido de una inducción de genes diana de HIF. O bien se trata de formadores de complejo de hierro (quelantes) como desferroxamina, que actúan como inhibidores inespecíficos de dioxigenasas que contienen hierro y, aunque originan una inducción del gen diana *in vivo*, como por ejemplo eritropoyetina, contrarrestan aparentemente la eritropoyesis mediante la complejación del hierro disponible.

Es objetivo de la presente invención proporcionar nuevos compuestos que pueden usarse para el tratamiento de enfermedades, particularmente enfermedades cardiovasculares y hematológicas.

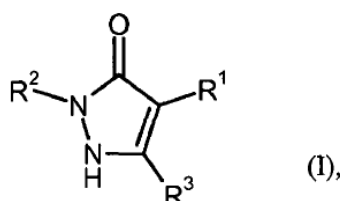
En el marco de la presente invención, se describen en adelante compuestos que actúan como inhibidores específicos de HIF-prolil-4-hidroxilasas y que, a causa de este mecanismo de acción específico, originan *in vivo*, después de administración por vía parenteral u oral, la inducción de genes diana de HIF como, por ejemplo, eritropoyetina, y de los procesos biológicos causados por la misma como, por ejemplo, eritropoyesis.

Se dan a conocer 2-heteroaril-4-aril-1,2-dihidropirazonas con efecto bactericida y/o fungicida en los documentos EP 165.448 y EP 212.281. Se reivindica el uso de 2-heteroaril-4-aril-1,2-dihidropirazonas como inhibidores de lipooxigenasa para el tratamiento de enfermedades del tracto respiratorio, cardiocirculatorias e inflamatorias en el documento EP 183.159. Se describen 2,4-difenil-1,2-dihidropirazonas con actividad herbicida en el documento DE 2.651.008. Se informa de la preparación y propiedades farmacológicas de determinadas 2-piridil-1,2-dihidropirazonas en *Helv. Chim. Acta* 49(1), 272-280 (1966). En los documentos WO 96/12706, WO 00/51989 y WO 03/074550 se reivindican compuestos con estructura parcial de dihidropirazona para el tratamiento de distintas enfermedades, y en el documento WO 2006/101903 se dan a conocer biperazoles sustituidos con hidroxilo o alcoxi

para el tratamiento de enfermedades neuropsiquiátricas. Además, se describen en los documentos WO 03/051833 y WO 2004/089303 derivados de pirazol sustituidos con heteroarilo para el tratamiento de dolor y distintas enfermedades del SNC. Mientras tanto, se han dado a conocer en el documento WO 2006/114213 2,4-dipiridil-1,2-dihidropirazonas como inhibidores de HIF-propil-4-hidroilasas.

- 5 Se informa sobre la estructura de cristal de rayos X del compuesto 3-metil-1-(piridin-2-il)-4-(1-piridin-2-il-3-metil)-1*H*-pirazol-5-il)-2*H*-3-pirazolin-5(1*H*)-ona (otra denominación: 5,5'-dimetil-2,2'-dipiridin-2-il-1',2'-dihidro-2*H*,3'*H*-3,4'-bipirazol-3'-ona) en *Acta Crystallogr., section E: Structure Reports Online* E57 (11) o1126-o1127 (2001) [*Chem. Abstr.* 2001: 796190]. Se describe la síntesis de determinados derivados de 3',5-dimetil-2-fenil-1'-(1,3-tiazol-2-il)-1'*H*,2*H*-3,4'-bipirazol-5'-ol en *Indian J. Heterocycl. Chem.* 3(1), 5-8 (1993) [*Chem. Abstr.* 1994: 323362]. Se informa sobre la preparación y tautomería de derivados individuales de 4-(pirazol-5-il)pirazolin-5-ona en *J. Heterocycl. Chem.* 27(4), 865-870 (1990) [*Chem. Abstr.* 1991: 428557]. No se ha descrito hasta la fecha una aplicación terapéutica para los compuestos citados en estas publicaciones. En el documento WO 2007/008541, se indica el compuesto 2-*terc*-butil-1'-[4-(4-clorofenil)-1,3-tiazol-2-il]-3',5-dimetil-1'*H*,2*H*-3,4'-bipirazol-5'-ol como ejemplo de ensayo.

Son objeto de la presente invención compuestos de fórmula general (I)



15

en la que

- 20 Son compuestos según la invención los compuestos de fórmula (I) y sus sales, solvatos y solvatos de las sales, los compuestos comprendidos en la fórmula (I) de las fórmulas citadas a continuación y sus sales, solvatos y solvatos de las sales, así como los compuestos citados a continuación como ejemplos de realización comprendidos en la fórmula (I) y sus sales, solvatos y solvatos de las sales, a menos que se trate ya en los compuestos citados a continuación comprendidos en la fórmula (I) de sales, solvatos y solvatos de las sales.

- 25 Los compuestos según la invención pueden existir dependiendo de su estructura en formas estereoisoméricas (enantiómeros, diastereómeros). La invención comprende por tanto los enantiómeros o diastereómeros y sus respectivas mezclas. A partir de dichas mezclas de enantiómeros y/o diastereómeros, pueden aislarse los componentes individuales estereoisoméricos de modo conocido.

En caso de poder presentarse los compuestos según la invención en formas tautoméricas, la presente invención comprende todas las formas tautoméricas.

- 30 Como sales son preferentes en el marco de la presente invención sales fisiológicamente inocuas de los compuestos según la invención. Están comprendidas también sales que no son adecuadas por sí mismas para aplicaciones farmacéuticas, pero que pueden usarse por ejemplo para el aislamiento o purificación de los compuestos según la invención.

- 35 Sales fisiológicamente inocuas de los compuestos según la invención comprenden sales de adición de ácidos de ácidos minerales, ácidos carboxílicos y ácidos sulfónicos, por ejemplo, sales de ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido toluenosulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido naftalenodisulfónico, ácido acético, ácido trifluoroacético, ácido propiónico, ácido láctico, ácido tartárico, ácido málico, ácido cítrico, ácido fumárico, ácido maleico y ácido benzoico.

- 40 Sales fisiológicamente inocuas de los compuestos según la invención comprenden también sales de bases habituales como, por ejemplo y preferentemente, sales de metales alcalinos (por ejemplo, sales de sodio y potasio), sales de alcalinotérreos (por ejemplo, sales de calcio y magnesio) y sales de amonio, derivadas de amoniaco o aminas orgánicas de 1 a 16 átomos de C como, por ejemplo y preferentemente, etilamina, dietilamina, trietilamina, etildiisopropilamina, monoetanolamina, dietanolamina, trietanolamina, dicitclohexilamina, dimetilaminoetanol, procaína, dibencilamina, *N*-metilmorfolina, arginina, lisina, etilendiamina y *N*-metilpiperidina.

- 45 Como solvatos se designan en el marco de la presente invención aquellas formas de los compuestos según la invención que forman un complejo en estado sólido o líquido mediante coordinación con moléculas de disolvente. Los hidratos son una forma especial de solvatos en los que se realiza la coordinación con agua. Son preferentes como solvatos en el marco de la presente invención los hidratos.

En el marco de la presente invención, los sustituyentes tienen el siguiente significado, a menos que se especifique lo

contrario:

5 Alquilo (C₁-C₆) y alquilo (C₁-C₄) representan en el marco de la invención un resto alquilo de cadena lineal o ramificado de 1 a 6 o 1 a 4 átomos de carbono. Es preferente un resto alquilo de cadena lineal o ramificada de 1 a 4 átomos de carbono. Se citan, como ejemplos y preferentemente: metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo, sec-butilo, *terc*-butilo, 1-etilpropilo, n-pentilo y n-hexilo.

Alcoxi (C₁-C₆) y alcoxi (C₁-C₄) representan en el marco de la invención un resto alcoxi de cadena lineal o ramificado de 1 a 6 o 1 a 4 átomos de carbono. Es preferente un resto alcoxi de cadena lineal o ramificada de 1 a 4 átomos de carbono. Se citan, como ejemplos y preferentemente: metoxi, etoxi, n-propoxi, isopropoxi, n-butoxi, *terc*-butoxi, n-pentoxi y n-hexoxi.

10 Monoalquil (C₁-C₄)-amino representa en el marco de la invención un grupo amino con un sustituyente alquilo de cadena lineal o ramificado que presenta 1 a 4 átomos de carbono. Se citan, como ejemplos y preferentemente: metilamino, etilamino, n-propilamino, isopropilamino, n-butilamino y *terc*-butilamino.

15 Dialquil (C₁-C₄)-amino representa en el marco de la invención un grupo amino con dos sustituyentes alquilo iguales o distintos de cadena lineal o ramificados que presentan respectivamente 1 a 4 átomos de carbono. Se citan, como ejemplos y preferentemente: *N,N*-dimetilamino, *N,N*-dietilamino, *N*-etil-*N*-metilamino, *N*-metil-*N*-n-propilamino, *N*-isopropil-*N*-n-propilamino, *N,N*-diisopropilamino, *N*-n-butil-*N*-metilamino y *N-terc*-butil-*N*-metilamino.

Alcoxi (C₁-C₄)-carbonilo representa en el marco de la invención un resto alcoxi de cadena lineal o ramificada de 1 a 4 átomos de carbono que está unido por un grupo carbonilo. Se citan, como ejemplos y preferentemente: metoxicarbonilo, etoxicarbonilo, n-propoxicarbonilo, isopropoxicarbonilo, n-butoxicarbonilo y *terc*-butoxicarbonilo.

20 Heterocicloalquilo de 4 a 6 miembros representa en el marco de la invención un heterociclo monocíclico o dado el caso bicíclico, saturado o que contiene un doble enlace de 4 a 6 átomos de anillo en total, que contiene uno o dos heteroátomos de anillo de la serie de N, O y/o S y que está unido por un átomo de carbono de anillo o dado el caso un átomo de nitrógeno de anillo. Se citan como ejemplos: azetidino, oxetanilo, tietanilo, pirrolidinilo, pirrolinilo, pirazolidinilo, dihidropirazolilo, tetrahidrofurano, tiolanilo, 1,3-oxazolidinilo, 1,3-tiazolidinilo, piperidinilo, tetrahidropiridilo, piperazinilo, tetrahidropirano, dihidropirano, tetrahidrotiopirano, 1,3-dioxano, 1,4-dioxano, morfolinilo y tiorfolinilo;

25

Es preferente en el marco de la invención un resto heterocicloalquilo saturado monocíclico de 4 a 6 miembros con 4 a 6 átomos de anillo en total, que contiene uno o dos heteroátomos de anillo de la serie de N, O y/o S y que está unido por un átomo de anillo de carbono o dado el caso un átomo de anillo de nitrógeno. Se citan como ejemplos: azetidino, oxetanilo, tietanilo, pirrolidinilo, pirazolidinilo, tetrahidrofurano, tiolanilo, 1,3-oxazolidinilo, piperidinilo, piperaxinilo, tetrahidropirano, tetrahidrotiopirano, 1,3-dioxano, 1,4-dioxano, morfolinilo, tiorfolinilo; es especialmente preferente un resto heterocicloalquilo de 4 a 6 miembros con 4 a 6 átomos de anillo en total, que contiene uno o dos heteroátomos de anillo de la serie de N y/o O como, por ejemplo, pirrolidinilo, tetrahidrofurano, piperidinilo, piperazinilo, tetrahidropirano y morfolinilo.

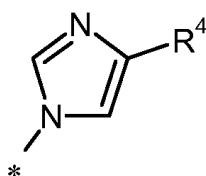
30

35 Halógeno incluye en el marco de la invención flúor, cloro, bromo y yodo. Son preferentes flúor, cloro y bromo, son especialmente preferentes flúor y cloro.

Si los restos en los compuestos según la invención están sustituidos, los restos pueden estar sustituidos, a menos que se especifique otra cosa, una o varias veces. En el marco de la presente invención, es válido que, para todos los restos que aparecen varias veces, su significado es independiente entre sí. Es preferente una sustitución con uno, dos o tres sustituyentes iguales o distintos. Es especialmente preferente la sustitución con uno o dos sustituyentes iguales o distintos.

40

R¹ representa un grupo heteroarilo de fórmula



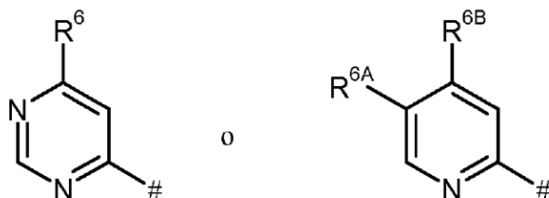
45 en las que

* significa los puntos de unión con el anillo de dihidropirazolona,

y

R⁴ significa hidrógeno, flúor, cloro, bromo, ciano, alquilo (C₁-C₄), trifluorometilo, hidroximetilo, alcoxi (C₁-C₄), trifluorometoxi, hidroxicarbonilo o alcoxi (C₁-C₄)-carbonilo,

R² representa un grupo heteroarilo de fórmula



en la que

significa los puntos de unión con el anillo de dihidropirazolona,

y

10 R⁶, R^{6A} y R^{6B} son iguales o distintos y significan independientemente uno de otro hidrógeno o un sustituyente seleccionado del grupo de flúor, cloro, bromo, ciano, alquilo (C₁-C₆), trifluorometilo, hidroxilo, alcoxi (C₁-C₆), trifluorometoxi, amino, mono-alquil (C₁-C₄)-amino, dialquil (C₁-C₄)-amino, hidroxicarbonilo, alcoxi (C₁-C₄)-carbonilo y heterocicloalquilo de 4 a 6 miembros, en donde por su parte alquilo (C₁-C₆) puede estar sustituido con hidroxilo, alcoxi (C₁-C₄) o amino,

y

heterocicloalquilo de 4 a 6 miembros por su parte puede estar sustituido una o dos veces, iguales o distintas, con flúor, ciano, alquilo (C₁-C₄), trifluorometilo, hidroxilo, alcoxi (C₁-C₄), oxo, amino, mono-alquil (C₁-C₄)-amino, di-alquil (C₁-C₄)-amino, hidroxicarbonilo y/o alcoxi (C₁-C₄)-carbonilo,

y

R³ representa hidrógeno,

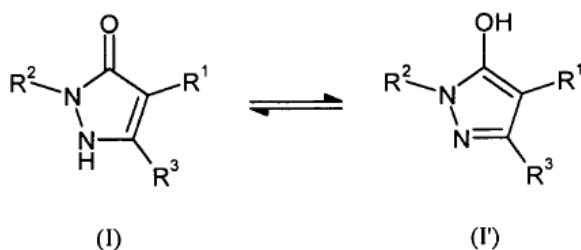
así como sus sales, solvatos y solvatos de las sales.

25 Las definiciones de restos individuales dadas en las respectivas combinaciones o combinaciones preferentes de restos se sustituyen también a voluntad, dependiendo de las combinaciones de restos dadas respectivamente, por definiciones de restos de otras combinaciones.

Son muy especialmente preferentes combinaciones de dos o más de los intervalos preferentes anteriormente citados.

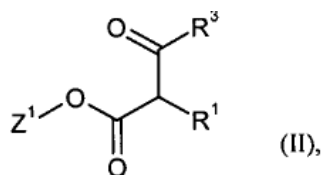
30 Los derivados de 1,2-dihidropirazol-3-ona de fórmula (I) según la invención pueden presentarse también en la forma tautomérica 1H-pirazol-5-ol (I') (véase el siguiente esquema 1); ambas formas tautoméricas están comprendidas expresamente en la presente invención.

Esquema 1



Es un objetivo adicional de la invención un procedimiento para la preparación de los compuestos de fórmula (I) según la invención, caracterizado porque se hace reaccionar un compuesto de fórmula (II)

5

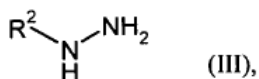


en la que R¹ y R³ presentan los significados anteriormente dados y

Z¹ representa metilo o etilo,

en un disolvente inerte, dado el caso en presencia de un ácido, con un compuesto de fórmula (III)

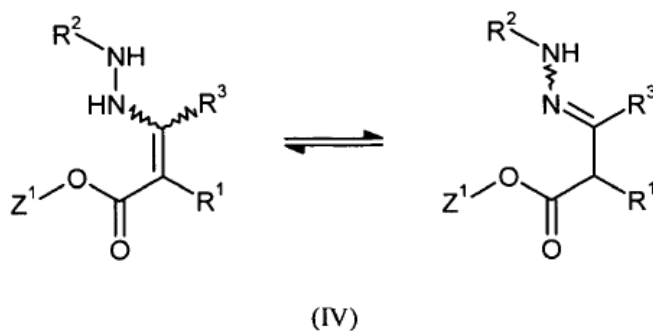
10



en la que R² presenta el significado anteriormente dado,

para dar compuestos de fórmula (IV)

15



en la que Z¹, R¹, R² y R³ presentan los significados anteriormente dados,

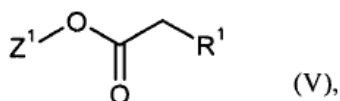
que ya en estas condiciones de reacción o en una etapa de reacción posterior se ciclan bajo la influencia de una base para dar los compuestos de fórmula (I),

20

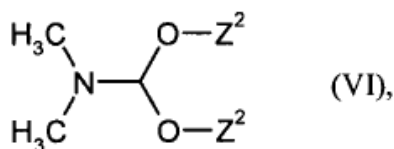
y los compuestos de fórmula (I) se transforman dado el caso con los correspondientes (i) disolventes y/o (ii) bases o ácidos en sus solvatos, sales y/o solvatos de las sales.

Los compuestos de fórmula (I) según la invención, en los que R³ significa hidrógeno, pueden prepararse también condensando en primer lugar un compuesto de fórmula (V)

25



en la que Z^1 y R^1 presentan los significados anteriormente dados,
con un compuesto de fórmula (VI)

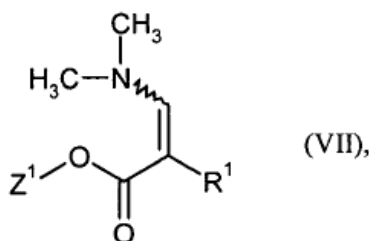


5

en la que

Z^2 representa metilo o etilo,

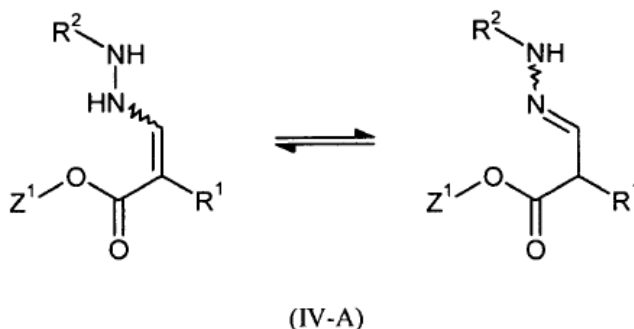
para dar compuestos de fórmula (VII)



10

en la que Z^1 y R^1 presentan los significados anteriormente dados,

y a continuación haciéndolos reaccionar en presencia de un ácido con un compuesto de fórmula (III) para dar compuestos de fórmula (IV-A)



15

en la que Z^1 , R^1 y R^2 presentan los significados anteriormente dados,

que ya en estas condiciones de reacción o en una etapa de reacción posterior se ciclan bajo la influencia de una base para dar los compuestos de fórmula (I), en la que R^3 representa hidrógeno.

20 Pueden prepararse dado el caso también otros compuestos según la invención mediante la conversión de grupos funcionales de sustituyentes individuales, particularmente los indicados por R^1 y R^2 , a partir de los compuestos de fórmula (I) obtenidos según el procedimiento anterior. Estas conversiones se llevan a cabo según procedimientos habituales conocidos por el experto y comprenden, por ejemplo, reacciones como sustitución nucleofílica o electrofílica, oxidación, reducción, hidrogenación, reacciones de acoplamiento catalizadas por metal de transición, alquilación, acilación, aminación, esterificación, escisión de éster, eterificación, escisión de éter, formación de carbonamidas, sulfonamidas, carbamatos y ureas, así como la introducción y eliminación de grupos protectores temporales.

25

Como disolventes inertes para las etapas de procedimiento (II) + (III) \rightarrow (IV), (IV) \rightarrow (I), (VII) + (III) \rightarrow (IV-A) y (IV-A)

→ (I), son particularmente adecuados éteres como dietiléter, metil-*terc*-butiléter, 1,2-dimetoxietano, tetrahidrofurano y dioxano, o alcoholes como metanol, etanol, n-propanol, isopropanol, n-butanol y *terc*-butanol. Es preferente el uso de metanol, etanol, tetrahidrofurano o mezclas de estos disolventes.

5 La etapa de procedimiento (V) + (VI) → (VII) se lleva a cabo preferentemente en dimetilformamida como disolvente o también en presencia de un exceso de (VI) sin disolvente adicional. Eventualmente, la reacción puede realizarse también ventajosamente con irradiación de microondas. La reacción sucede en general en un intervalo de temperatura de +20 °C a +150 °C, preferentemente a +80 °C a +120 °C [véase también J.P. Bazureau y col., *Synthesis* 1998, 967; *ibid.* 2001(4), 581].

10 Las etapas de procedimiento (II) + (III) → (IV) y (VII) + (III) → (IV-A) pueden llevarse a cabo dado el caso ventajosamente con la adición de un ácido. Para ello, son adecuados ácidos inorgánicos u orgánicos habituales como, por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido acético, ácido trifluoroacético, ácido metanosulfónico, ácido p-toluenosulfónico o ácido canfo-10-sulfónico. Se usan preferentemente ácido acético o particularmente ácido canfo-10-sulfónico o ácido p-toluenosulfónico.

15 La reacción (II) + (III) → (IV) se realiza en general en un intervalo de temperatura de 0 °C a +100 °C, preferentemente a +10 °C a +50 °C. La reacción (VII) + (III) → (IV-A) se lleva a cabo en general en un intervalo de temperatura de +20 °C a +120 °C, preferentemente a +50 °C a +100 °C.

20 Las secuencias de reacción (II) + (III) → (IV) → (I) y (VII) + (III) → (IV-A) → (I) pueden llevarse a cabo con un procedimiento de reacción de dos etapas o también como reacción de un recipiente, sin aislamiento del producto intermedio (IV) o (IV-A). Para la última variante, es particularmente adecuada la reacción de los componentes con irradiación de microondas; la reacción se realiza a este respecto en general en un intervalo de temperatura de +50 °C a +200 °C, preferentemente a +100 °C a +180 °C.

Aparece parcialmente también un cierre de anillo hasta (I) ya en la preparación de (IV) o (IV-A); la ciclación puede completarse después dado el caso mediante el tratamiento *in situ* de la mezcla de reacción con una base.

25 Como base para una de dichas etapas de ciclación separadas (IV) → (I) o (IV-A) → (I), son adecuadas bases inorgánicas u orgánicas habituales. Pertenecen a ellas particularmente hidróxidos alcalinos como, por ejemplo, hidróxido de sodio o potasio, carbonatos alcalinos o alcalinotérreos como carbonato de sodio, potasio, calcio o cesio, alcoholatos alcalinos como metanolato de sodio o potasio, etanolato de sodio o potasio o *terc*-butilato de sodio o potasio, o hidruros alcalinos como hidruro de sodio. Es preferente el uso metanolato o etanolato de sodio.

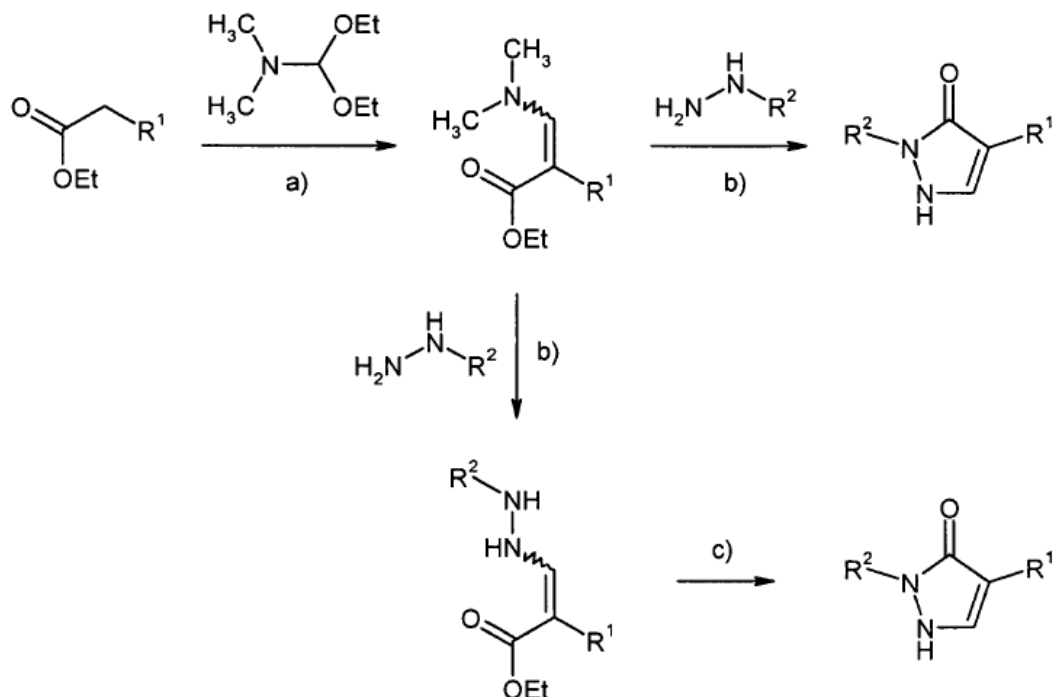
30 La reacción inducida por bases (IV) → (I) o (IV-A) → (I) se realiza en general en un intervalo de temperatura de 0 °C a +60 °C, preferentemente de 0 °C a +30 °C.

Todas las etapas de procedimiento pueden llevarse a cabo a presión normal, elevada o reducida (por ejemplo, de 50 a 500 kPa). En general, se trabaja a presión normal.

35 Los compuestos de fórmula (II) pueden prepararse según procedimientos habituales en la literatura para la C-acilación de ésteres de ácido carboxílico a partir de compuestos de fórmula (V). Los compuestos de fórmulas (III), (V) y (VI) son comercialmente obtenibles, conocidos en la literatura o pueden prepararse análogamente a procedimientos descritos en la literatura.

La preparación de los compuestos según la invención puede ilustrarse mediante el siguiente esquema de reacción 2:

Esquema 2



[a): DMF, 16 h, +100 °C; b) etanol, cat. ácido canfo-10-sulfónico, +78 °C; c) NaOEt, etanol, 1 h, TA].

- 5 Los compuestos según la invención muestran un espectro de acción farmacológica valioso impredecible. Son por tanto adecuados para uso como medicamento para el tratamiento y/o la prevención de enfermedades en seres humanos y animales.

Los compuestos según la invención se caracterizan como inhibidores específicos de HIF-prolil-4-hidroxilasas.

- 10 Los compuestos según la invención pueden usarse debido a sus propiedades farmacológicas para el tratamiento y/o la prevención de enfermedades cardiovasculares, particularmente de insuficiencia cardiaca, enfermedad cardiaca coronaria, angina de pecho, infarto de miocardio, apoplejía, arteriosclerosis, hipertensión esencial, pulmonar y maligna, así como enfermedad oclusiva arterial periférica.

- 15 Los compuestos según la invención son adecuados además para el tratamiento y/o la prevención de alteraciones de la formación de sangre como, por ejemplo, anemias idiopáticas, anemias renales y anemias acompañantes de una enfermedad tumoral (particularmente una anemia inducida por quimioterapia), una infección (particularmente infección por VIH) u otra enfermedad inflamatoria como, por ejemplo, artritis reumatoide. Los compuestos según la invención son adecuados además para el tratamiento de apoyo de anemias como resultado de la pérdida de sangre, anemia por falta de hierro, anemia por falta de vitamina (por ejemplo, como resultado de la falta de vitamina B12 o como resultado de la falta de ácido fólico), anemia hipoplásica y aplásica, anemia hemolítica o para el tratamiento de apoyo de anemias como resultado de alteraciones en el uso de hierro (anemia siderocrética) o anemias como resultado de alteraciones endocrinas (por ejemplo, hipotirose).

- 20 Los compuestos son adecuados además para el aumento del hematocrito con el objetivo de obtención de sangre para autodonaciones antes de operaciones.

- 25 Los compuestos según la invención pueden usarse además para el tratamiento y/o la prevención de estados isquémicos causados por operaciones y sus secuelas después de intervenciones quirúrgicas, particularmente intervenciones de corazón usando un dispositivo cardiopulmonar (por ejemplo, operaciones de derivación, implantes de válvula cardiaca), intervenciones en la carótida, intervenciones en la aorta e intervenciones con apertura instrumental o penetración de la calota craneal. Los compuestos son adecuados además para el tratamiento y/o la prevención general en intervenciones quirúrgicas con el objetivo de aceleración de la curación de heridas y acortamiento del tiempo de convalecencia.

- 30 Los compuestos son adecuados además para el tratamiento y la prevención de secuelas de estados isquémicos agudos y prolongados del cerebro (por ejemplo, apoplejía, asfixia perinatal).

Los compuestos pueden usarse además para el tratamiento y/o la prevención de cáncer y para el tratamiento y/o la prevención de un perjuicio del estado de salud que aparece en el transcurso del tratamiento de cáncer, particularmente después de terapia con citostáticos, antibióticos e irradiación.

5 Los compuestos son adecuados además para el tratamiento y/o la prevención de enfermedades de la categoría reumática y otras de las categorías asignadas a enfermedades autoinmunitarias, y particularmente para el tratamiento y/o la prevención de un perjuicio del estado de salud que aparece en el transcurso del tratamiento medicamentoso de dichas enfermedades.

10 Además, los compuestos según la invención pueden usarse para el tratamiento y/o la prevención de enfermedades de los ojos (por ejemplo, glaucoma), del cerebro (por ejemplo, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, demencia, sensaciones dolorosas crónicas), de enfermedades renales crónicas, insuficiencia renal e insuficiencia renal aguda, así como para la potenciación de la curación de heridas.

Además, los compuestos son adecuados para el tratamiento y/o la prevención de una debilidad corporal general que aparece particularmente a avanzada edad hasta llegar a caquexia.

15 Además, los compuestos son adecuados para el tratamiento y/o la prevención de disfunción sexual. Además, los compuestos son adecuados para el tratamiento y/o la prevención de diabetes mellitus y sus secuelas como, por ejemplo, macroangiopatía y microangiopatía, nefropatía y neuropatía diabéticas.

Además, los compuestos según la invención son adecuados para el tratamiento y/o la prevención de enfermedades fibróticas, por ejemplo, del corazón, de pulmones y del hígado.

20 Los compuestos según la invención son particularmente adecuados también para la prevención y el tratamiento de retinopatía del prematuro.

Es un objeto adicional de la presente invención el uso de los compuestos según la invención para el tratamiento y/o la prevención de enfermedades, particularmente de las enfermedades anteriormente citadas.

25 Los compuestos según la invención pueden usarse solos o en caso necesario en combinación con otros principios activos. Son objeto adicional de la presente invención medicamentos que contienen al menos uno de los compuestos según la invención y uno o más de otros principios activos, particularmente para el tratamiento y/o la prevención de las enfermedades anteriormente citadas. Como principios activos de combinación adecuados se citan, como ejemplos y preferentemente: inhibidores de ACE, antagonistas de receptor de angiotensina II, bloqueantes de receptor beta, antagonistas de calcio, inhibidores de PDE, antagonistas de receptor de mineralocorticoide, diuréticos, aspirina, suplementos de hierro, suplementos de vitamina B12 y ácido fólico, 30 estatinas, derivados de digital (digoxina), agentes quimioterapéuticos de tumores, así como antibióticos.

En una forma de realización preferente de la invención, se administran los compuestos según la invención en combinación con un inhibidor de ACE como, por ejemplo y preferentemente, enalapril, captopril, lisinopril, ramipril, delapril, fosinopril, quinopril, perindopril otrandopril.

35 En una forma de realización preferente de la invención, se administran los compuestos según la invención en combinación con un antagonista de angiotensina AII como, por ejemplo y preferentemente, losartán, candesartán, valsartán, telmisartán o embusartán.

40 En una forma de realización preferente de la invención, se administran los compuestos según la invención en combinación con un bloqueante de receptores beta como, por ejemplo y preferentemente, propanolol, atenolol, timolol, pindolol, alprenolol, oxprenolol, penbutolol, bupranolol, metipranolol, nadolol, mepindolol, carazolol, sotalol, metoprolol, betaxolol, celiprolol, bisoprolol, carteolol, esmolol, labetalol, carvedilol, adaprolol, landiolol, nebivolol, epanolol o bucindolol.

En una forma de realización preferente de la invención, se administran los compuestos según la invención en combinación con un antagonista de calcio como, por ejemplo y preferentemente, nifedipina, amlodipina, verapamil o diltiazem.

45 En una forma de realización preferente de la invención, se administran los compuestos según la invención en combinación con un inhibidor de fosfodiesterasa (PDE) como, por ejemplo y preferentemente, milrinona, amrinona, pimobendán, cilostazol, sildenafil, vardenafilo o tadalafil.

50 En una forma de realización preferente de la invención, se administran los compuestos según la invención en combinación con un antagonista de receptor de mineralocorticoide como, por ejemplo y preferentemente, espironolactona, epleronona, canrenona o canreonato de potasio.

En una forma de realización preferente de la invención, se administran los compuestos según la invención en combinación con un diurético como, por ejemplo y preferentemente, furosemida, bumetanida, torsemida, bendroflumetiazida, clortiazida, hidroclortiazida, hidroflumetiazida, metilclotiazida, politiazida, triclormetiazida, clortalidona, indapamida, metolazona, quinetazona, acetazolamida, diclorfenamida, metazolamida, glicerina,

isosorbida, manitol, amilorida o triamtereno.

En una forma de realización preferente de la invención, se administran los compuestos según la invención en combinación con un inhibidor de HMG-CoA reductasa de la clase de estatinas como, por ejemplo y preferentemente, lovastatina, simvastatina, pravastatina, fluvastatina, atorvastatina, rosuvastatina, cerivastatina o pitavastatina.

- 5 En una forma de realización preferente de la invención, se administran los compuestos según la invención en combinación con un agente quimioterapéutico de tumores, por ejemplo y preferentemente, del grupo de complejos de platino como, por ejemplo, cisplatino y carboplatino, de los alquilantes como, por ejemplo, ciclofosfamida y clorambucilo, de los antimetabolitos como, por ejemplo, 5-fluorouracilo y metotrexato, de los inhibidores de topoisomerasa como, por ejemplo, etopósido y camptotecina, de los antibióticos como, por ejemplo, doxorubicina y daunorubicina, o de los inhibidores de cinasa como, por ejemplo, sorafenib y sunitinib.

- 10 En una forma de realización preferente de la invención, se administran los compuestos según la invención en combinación con un antibiótico, por ejemplo y preferentemente, del grupo de penicilinas, cefalosporinas o quinolonas como, por ejemplo, ciprofloxacina y moxifloxacina.

- 15 Son objeto adicional de la presente invención medicamentos que contienen al menos un compuesto según la invención, habitualmente junto con uno o varios coadyuvantes inertes no tóxicos farmacéuticamente adecuados, así como su uso con los fines anteriormente citados.

Los compuestos según la invención pueden actuar sistémica y/o localmente. Con este fin, pueden administrarse de modo adecuado como, por ejemplo, por vía oral, parenteral, pulmonar, nasal, sublingual, lingual, bucal, rectal, dérmica, transdérmica, conjuntiva, ótica o como implante o prótesis endovascular.

- 20 Para estos modos de administración, pueden administrarse los compuestos según la invención en forma de administración adecuadas.

- 25 Para la administración por vía oral, son adecuadas formas de administración funcionales según el estado de la técnica que liberan los compuestos según la invención de forma rápida y/o modificada, que contienen los compuestos según la invención en forma cristalina y/o amorfa y/o disuelta como, por ejemplo, comprimidos (comprimidos no recubiertos o recubiertos, por ejemplo con recubrimientos gastrorresistentes o de liberación retardada o insolubles que controlan la liberación del compuesto según la invención), comprimidos o películas/oblas de degradación rápida en la cavidad bucal, películas/liofilizados, cápsulas (por ejemplo, cápsulas de gelatina dura o blanda), grageas, gránulos, aglomerados, polvos, emulsiones, suspensiones, aerosoles o soluciones.

- 30 La administración por vía parenteral puede efectuarse evitando una etapa de resorción (por ejemplo, por vía intravenosa, intraarterial, intracardiaca, intraespinal o intralumbal) o incluyendo una resorción (por ejemplo, por vía intramuscular, subcutánea, intracutánea, percutánea o intraperitoneal). Para la administración parenteral, son adecuadas como formas de administración, entre otras, preparados de inyección e infusión en forma de soluciones, suspensiones, emulsiones, liofilizados o polvos estériles.

- 35 Para los otros modos de administración son adecuadas, por ejemplo, formas farmacéuticas de inhalación (entre otras, inhaladores de polvo, nebulizadores), gotas, soluciones o pulverizadores nasales, comprimidos, películas/oblas o cápsulas de administración lingual, sublingual o bucal, supositorios, preparaciones auriculares u oculares, cápsulas vaginales, suspensiones acuosas (lociones, mezclas para agitar), suspensiones lipófilas, pomadas, cremas, sistemas terapéuticos transdérmicos (por ejemplo, apósitos), leches, pastas, espumas, polvos finos, implantes o prótesis endovasculares.

- 40 Es preferente la administración por vía oral o parenteral, particularmente la administración por vía oral e intravenosa.

- 45 Los compuestos según la invención pueden transformarse en las formas de administración mencionadas. Esto puede efectuarse de modo conocido mediante mezclado con coadyuvantes inertes no tóxicos farmacéuticamente adecuados. Entre estos coadyuvantes se cuentan, entre otros, vehículos (por ejemplo, celulosa microcristalina, lactosa, manitol), disolventes (por ejemplo, polietilenglicoles líquidos), emulsionantes y dispersantes o humectantes (por ejemplo, dodecilsulfato de sodio, oleato de polioxisorbitán), aglutinantes (por ejemplo, polivinilpirrolidona), polímeros sintéticos y naturales (por ejemplo, albúmina), estabilizadores (por ejemplo, antioxidantes como, por ejemplo, ácido ascórbico), colorantes (por ejemplo, pigmentos inorgánicos como, por ejemplo, óxidos de hierro) y correctores del sabor y/u olor.

- 50 En general, se ha mostrado ventajoso administrar en administración por vía parenteral cantidades de aproximadamente 0,001 a 1 mg/kg, preferentemente de aproximadamente 0,01 a 0,5 mg/kg de peso corporal para conseguir resultados eficaces. En la administración oral, la dosificación asciende aproximadamente a 0,01 a 100 mg/kg, preferentemente a aproximadamente 0,01 a 20 mg/kg y con muy especial preferencia a 0,1 a 10 mg/kg de peso corporal.

- 55 A pesar de ello, puede ser necesario desviarse de las cantidades citadas, ciertamente dependiendo del peso corporal, modo de administración, comportamiento individual frente al principio activo, tipo de preparado y momento

o intervalo en que se realiza la administración. Así, puede ser suficiente en algunos casos con menos de la cantidad mínima anteriormente citada, mientras que en otros casos deben superarse los límites superiores citados. En caso de administración de cantidades grandes, puede ser recomendable dividir éstas en varias tomas individuales a lo largo del día.

- 5 Los ejemplos de realización siguientes ilustran la invención, La invención no está limitada a los ejemplos.

Los datos porcentuales en los siguientes ensayos y ejemplos son porcentajes en peso, a menos que se indique otra cosa; las partes son partes en peso. Las relaciones de disolvente, relaciones de dilución y datos de concentración de soluciones líquido/líquido se refieren respectivamente al volumen.

A. Ejemplos

10 **Abreviaturas y acrónimos:**

ac.	solución acuosa
cat.	catalítico
d	día(s)
DCI	ionización química directa (en EM)
15 DMF	dimetilformamida
DMSO	dimetilsulfóxido
d.t.	del valor teórico (en rendimiento)
EI	ionización por choque de electrones (en EM)
ESI	ionización por electropulverización (en EM)
20 Et	etilo
CG-EM	cromatografía de gases-espectroscopía de masas acopladas
h	hora(s)
HPLC	cromatografía líquida de alta presión, alta resolución
conc.	concentrado
25 CL-EM	cromatografía líquida-espectroscopía de masas acopladas
Proc.	Procedimiento
min	minuto(s)
EM	espectroscopía de masas
RMN	espectroscopía de resonancia nuclear
30 T _R	tiempo de retención (en HPLC)
TA	temperatura ambiente
TFA	ácido trifluoroacético
THF	tetrahidrofurano

Procedimientos de CL-EM, CG-EM y HPLC:

35 **Procedimiento 1 (CL-EM):**

Instrumento: Micromass Platform LCZ con HPLC Agilent Serie 1100; columna: Thermo Hypersil GOLD 3 µ, 20 mm x 4 mm; eluyente A: 1 l de agua + 0,5 ml de ácido fórmico al 50 %, eluyente B: 1 l de acetonitrilo + 0,5 ml de ácido fórmico al 50 %; gradiente: 0,0 min a 100 % de A → 0,2 min a 100 % de A → 2,9 min a 30 % de A → 3,1 min a 10 % de A → 5,5 min a 10 % de A; estufa: 50 °C; flujo: 0,8 ml/min; detección UV: 210 nm.

40 **Procedimiento 2 (CL-EM):**

5 Tipo de dispositivo de EM: Micromass ZQ; tipo de dispositivo de HPLC: HP 1100 Series; UV DAD; columna: Phenomenex Gemini 3 μ de 30 mm x 3,00 mm; eluyente A: 1 l de agua + 0,5 ml de ácido fórmico al 50 %, eluyente B: 1 l de acetonitrilo + 0,5 ml de ácido fórmico al 50 %; gradiente: 0,0 min a 90 % de A \rightarrow 2,5 min a 30 % de A \rightarrow 3,0 min a 5 % de A \rightarrow 4,5 min a 5 % de A; flujo: 0,0 min a 1 ml/min \rightarrow 2,5 min/3,0 min/4,5 min a 2 ml/min; estufa: 50 °C; detección UV: 210 nm.

Procedimiento 3 (CL-EM):

10 Instrumento: Micromass Quattro LCZ con HPLC Agilent Serie 1100; columna: Phenomenex Synergi 2 μ , Hydro-RP Mercury de 20 mm x 4 mm; eluyente A: 1 l de agua + 0,5 ml de ácido fórmico al 50 %, eluyente B: 1 l de acetonitrilo + 0,5 ml de ácido fórmico al 50 %; gradiente: 0,0 min a 90 % de A \rightarrow 2,5 min a 30 % de A \rightarrow 3,0 min a 5 % de A \rightarrow 4,5 min a 5 % de A; flujo: 0,0 min a 1 ml/min \rightarrow 2,5 min/3,0 min/4,5 min a 2 ml/min; estufa: 50 °C; detección UV: 208-400 nm.

Procedimiento 4 (CL-EM):

15 Tipo de dispositivo de EM: Micromass ZQ; tipo de dispositivo de HPLC: Waters Alliance 2795; columna: Phenomenex Synergi 2 μ Hydro-RP Mercury de 20 mm x 4 mm; eluyente A: 1 l de agua + 0,5 ml de ácido fórmico al 50 %, eluyente B: 1 l de acetonitrilo + 0,5 ml de ácido fórmico al 50 %; gradiente: 0,0 min a 90 % de A \rightarrow 2,5 min a 30 % de A \rightarrow 3,0 min a 5 % de A \rightarrow 4,5 min a 5 % de A; flujo: 0,0 min a 1 ml/min \rightarrow 2,5 min/3,0 min/4,5 min a 2 ml/min; estufa: 50 °C; detección UV: 210 nm.

Procedimiento 5 (CL-EM):

20 Tipo de dispositivo de EM: Micromass ZQ; tipo de dispositivo de HPLC: HP 1100 Series; UV DAD; columna: Phenomenex Synergi 2 μ Hydro-RP Mercury de 20 mm x 4 mm; eluyente A: 1 l de agua + 0,5 ml de ácido fórmico al 50 %, eluyente B: 1 l de acetonitrilo + 0,5 ml de ácido fórmico al 50 %; gradiente: 0,0 min a 90 % de A \rightarrow 2,5 min a 30 % de A \rightarrow 3,0 min a 5 % de A \rightarrow 4,5 min a 5 % de A; flujo: 0,0 min a 1 ml/min \rightarrow 2,5 min/3,0 min/4,5 min a 2 ml/min; estufa: 50 °C; detección UV: 210 nm.

Procedimiento 6 (CL-EM):

25 Tipo de dispositivo de EM: Waters ZQ; tipo de dispositivo de HPLC: Agilent 1100 Series; UV DAD; columna: Thermo Hypersil GOLD 3 μ de 20 mm x 4 mm; eluyente A: 1 l de agua + 0,5 ml de ácido fórmico al 50 %, eluyente B: 1 l de acetonitrilo + 0,5 ml de ácido fórmico al 50 %; gradiente: 0,0 min a 100 % de A \rightarrow 3,0 min a 10 % de A \rightarrow 4,0 min a 10 % de A \rightarrow 4,1 min a 100 % de A; flujo: 2,5 ml/min; estufa: 55 °C; detección UV: 210 nm.

Procedimiento 7 (CL-EM):

30 Tipo de dispositivo de EM: Micromass ZQ; tipo de dispositivo de HPLC: Waters Alliance 2795; columna: Phenomenex Synergi 2,5 μ MAX-RP 100A Mercury de 20 mm x 4 mm; eluyente A: 1 l de agua + 0,5 ml de ácido fórmico al 50 %, eluyente B: 1 l de acetonitrilo + 0,5 ml de ácido fórmico al 50 %; gradiente: 0,0 min a 90 % de A \rightarrow 0,1 min a 90 % de A \rightarrow 3,0 min a 5 % de A \rightarrow 4,0 min a 5 % de A \rightarrow 4,01 min a 90 % de A; flujo: 2 ml/min; estufa: 50 °C; detección UV: 210 nm.

35 Procedimiento 8 (CL-EM):

Instrumento: Micromass Quattro Micro MS con HPLC Agilent Serie 1100; columna: Thermo Hypersil GOLD 3 μ de 20 mm x 4 mm; eluyente A: 1 l de agua + 0,5 ml de ácido fórmico al 50 %, eluyente B: 1 l de acetonitrilo + 0,5 ml de ácido fórmico al 50 %; gradiente: 0,0 min a 100 % de A \rightarrow 3,0 min a 10 % de A \rightarrow 4,0 min a 10 % de A \rightarrow 4,01 min a 100 % de A (flujo 2,5 ml/min) \rightarrow 5,00 min a 100 % de A; estufa: 50 °C; flujo: 2 ml/min; detección UV: 210 nm.

40 Procedimiento 9 (CL-EM):

Instrumento: Micromass Quattro LCZ con HPLC Agilent Serie 1100; columna: Phenomenex Synergi 2,5 μ con MAX-RP 100A Mercury de 20 mm x 4 mm; eluyente A: 1 l de agua + 0,5 ml de ácido fórmico al 50 %, eluyente B: 1 l de acetonitrilo + 0,5 ml de ácido fórmico al 50 %; gradiente: 0,0 min a 90 % de A \rightarrow 0,1 min a 90 % de A \rightarrow 3,0 min a 5 % de A \rightarrow 4,0 min a 50 % de A \rightarrow 4,1 min a 90 % de A; flujo: 2 ml/min; estufa: 50 °C; detección UV: 208-400 nm.

45 Procedimiento 10 (CL-EM):

Instrumento: Micromass QuattroPremier con Waters UPLC Acquity; columna: Thermo Hypersil GOLD 1,9 μ de 50 mm x 1 mm; eluyente A: 1 l de agua + 0,5 ml de ácido fórmico al 50 %, eluyente B: 1 l de acetonitrilo + 0,5 ml de ácido fórmico al 50 %; gradiente: 0,0 min a 90 % de A \rightarrow 0,1 min a 90 % de A \rightarrow 1,5 min a 10 % de A \rightarrow 2,2 min a 10 % de A; flujo: 0,33 ml/min; estufa: 50 °C; detección UV: 210 nm.

50 Procedimiento 11 (HPLC):

Instrumento: HP 1100 con detección DAD; columna: Kromasil 100 RP-18 de 60 mm x 2,1 mm, 3,5 μ m; eluyente A: 5

ml de HClO₄ (al 70 %)/litro de agua, eluyente B: acetonitrilo; gradiente: 0 min a 2 % de B → 0,5 min a 2 % de B → 4,5 min a 90 % de B → 6,5 min a 90 % de B → 6,7 min a 2 % de B → 7,5 min a 2 % de B; flujo: 0,75 ml/min; temperatura de columna: 30 °C; detección UV: 210 nm.

Procedimiento 12 (HPLC):

- 5 Columna: Kromasil 100 C18 5 µm de 250 mm x 20 mm; eluyente A: ácido trifluoroacético al 0,2 %, eluyente B: acetonitrilo; gradiente: 0,0 min a 95 % de A → 10 min a 5 % de A → 15 min a 5 % de A → 15,1 min a 95 % de A → 20 min a 95 % de A; estufa: 30 °C; flujo: 25 ml/min; detección UV: 240 nm.

Procedimiento 13 (CL-EM):

- 10 Instrumento: Micromass Quattro LCZ con HPLC Agilent Serie 1100; columna: Phenomenex Onyx Monolithic C18 de 100 mm x 3 mm; eluyente A: 1 l de agua + 0,5 ml de ácido fórmico al 50 %, eluyente B: 1 l de acetonitrilo + 0,5 ml de ácido fórmico al 50 %; gradiente: 0,0 min a 90 % de A → 2 min a 65 % de A → 4,5 min a 5 % de A → 6 min a 5 % de A; flujo: 2 ml/min; estufa: 40 °C; detección UV: 208-400 nm.

Procedimiento 14 (CG-EM):

- 15 Instrumento: Micromass GCT, GC6890; columna: Restek RTX-35 de 15 m x 200 µm x 0,33 µm; flujo constante con helio: 0,88 ml/min; estufa: 70 °C; entrada: 250 °C; gradiente: 70 °C, 30 °C/min → 310 °C (mantener 3 min).

Procedimiento 15 (HPLC preparativa):

Columna: Chromatorex C18 5 µm de 250 mm x 20 mm; eluyente A: solución acuosa de diisopropiletilamina al 0,1 %, eluyente B: acetonitrilo; gradiente: 0,0 min a 60 % de A → 4 min a 60 % de A; estufa: 30 °C; flujo: 25 ml/min; detección UV: 260 nm.

- 20 Procedimiento 16 (CL-EM preparativo):

- 25 Instrumento de EM: Waters ZQ 2000; instrumento de HPLC: Agilent 1100, conexión de dos columnas; automuestreador: HTC PAL; columna: YMC-ODS-AQ de 50 mm x 4,6 mm, 3,0 µm; eluyente A: agua + ácido fórmico al 0,1 %, eluyente B: acetonitrilo + ácido fórmico al 0,1 %; gradiente: 0,0 min a 100 % de A → 0,2 min a 95 % de A → 1,8 min a 25 % de A → 1,9 min a 10 % de A → 2,0 min a 5 % de A → 3,2 min a 5 % de A → 3,21 min a 100 % de A → 3,35 min a 100 % de A; estufa: 40 °C; flujo: 3,0 ml/min; detección UV: 210 nm.

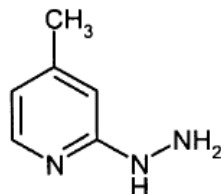
Procedimiento 17 (HPLC preparativa):

Columna: Kromasil 100 C18 5 µm de 250 mm x 20 mm; eluyente A: solución acuosa de diisopropiletilamina al 0,1 %, eluyente B: acetonitrilo; gradiente: 0,0 min a 95 % de A → 10 min a 65 % de A → 10,1 min a 95 % de A → 15 min a 95 % de A; estufa: 40 °C; flujo: 25 ml/min; detección UV: 210 nm.

30

Compuestos de partida y productos intermedios**Ejemplo 1A**

2-Hidrazino-4-metilpiridina



5

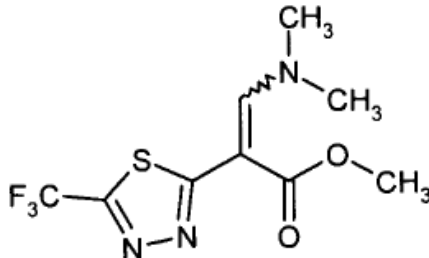
Se disponen 3,33 g (30,0 mmol) de 2-fluoro-4-metilpiridina en 40 ml de 2-etoxietanol, se añaden a la solución 14,6 ml (15,0 g, 300 mmol) de hidrato de hidrazina y se agita la preparación a ebullición (150 °C de temperatura de baño) durante 16 h. Se concentra después la solución de reacción en un evaporador rotatorio, se añade el residuo a 100 ml de agua y se extrae con acetato de etilo (tres veces con 100 ml cada vez). Se secan las fases orgánicas combinadas sobre sulfato de sodio, se filtran y se concentran. Se seca el residuo obtenido a vacío.

10

Rendimiento: 1,90 g (5 % d.t.).

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ= 7,83 (d, 1H), 7,22 (s, 1H), 6,51 (s, 1H), 6,38 (d, 1H), 4,04 (s, 2H), 2,17 (s, 3H).CL-EM (procedimiento 1): T_R= 0,80 min; EM (ESIpos): m/z= 124 [M+H]⁺.**Ejemplo 2A**

15 Éster metílico del ácido 3-(dimetilamino)-2-[5-(trifluorometil)-1,3,4-tiadiazol-2-il]acrílico



20

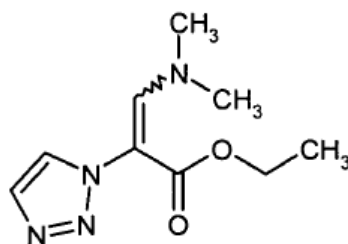
Se calientan 3,05 g (13,5 mmol) de éster metílico del ácido 5-(trifluorometil)-1,3,4-tiadiazol-2-ilacético [para la preparación, véase el documento DE 4240168-A1] en 6,9 ml (40,5 mmol) de dimetilformamida-dietilacetil a 100 °C durante una noche. Después de enfriar, se concentra y se purifica el residuo mediante HPLC preparativa (columna RP18; fase móvil: gradiente de acetonitrilo/agua).

Rendimiento: 2,8 g (74 % d.t.).

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ= 8,28 (s, 1H), 3,74 (s, 3H), 3,32 (s, 6H).CL-EM (procedimiento 4): T_R= 1,88 min; EM (ESIpos): m/z= 282 [M+H]⁺.

25

Ejemplo 3AÉster etílico del ácido 3-(dimetilamino)-2-(1*H*-1,2,3-triazol-1-il)acrílico



Se realiza la síntesis del compuesto del título análogamente al ejemplo 2A, a partir de 1,00 g (6,45 mmol) de éster etílico del ácido 2-(1H-1,2,3-triazol-1-il)acético.

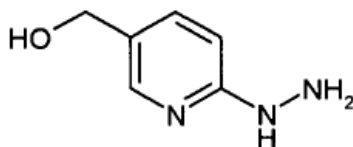
5 Rendimiento: 1,4 g (100 % d.t.).

RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6): δ = 8,10 (d, 1H), 7,78 (d, 1H), 7,65 (s, 1H), 4,03 (c, 2H), 3,06 (s a, 3H), 2,10 (s a, 3H), 1,12 (t, 3H).

CL-EM (procedimiento 5): T_R = 1,40 min; EM (ESIpos): m/z = 211 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Ejemplo 4A

10 (6-Hidrazinopiridin-3-il)metanol



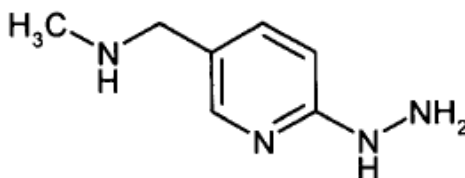
Se disponen 220,0 g (1,5 mol) de (6-cloropiridin-3-il)metanol [Evans y col., *Organic Letters* 2001, 19, 3009-3012] en 746 ml (767,1 g, 15,3 mol) de hidrato de hidrazina y se agita a una temperatura de baño de 150 °C durante 5 h. Se concentra la mezcla de reacción a vacío, se recoge el residuo con 500 ml de agua y se añaden 86,0 g (1,5 mol) de hidróxido de potasio. Se agita durante 15 min, se elimina después el agua en un evaporador rotatorio casi completamente y se destila azeotrópicamente el resto de agua varias veces con tolueno. Se agita el residuo oleoso en etanol, se enfría a aproximadamente 10 °C, se separa por filtración el cloruro de potasio precipitado, se concentra el filtrado, se mezcla el residuo con dietiléter y se agita. A continuación, se separa por filtración el producto, se lava la torta de filtrado con dietiléter y se secan los cristales a vacío.

Rendimiento: 149,0 g (68 % d.t.).

CL-EM (procedimiento 1): T_R = 0,46 min; EM (ESIpos): m/z = 140 $[\text{M}+\text{H}]^+$. RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6): δ = 7,91 (d, 1H), 7,40 (dd, 1H), 7,29 (s, 1H), 6,66 (d, 1H), 4,94 (s a, 1H), 4,34-4,28 (m, 2H), 4,04 (s a, 2H).

Ejemplo 5A

25 1-(6-Hidrazinopiridin-3-il)-N-metilmetanamina

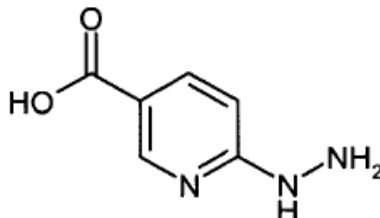


Se disponen 1,0 g (6,4 mmol) de 1-(6-cloropiridin-3-il)-N-metilmetanamina [para la preparación, véase el documento EP 0556684-A1] en 1,5 ml (1,6 g, 31,9 mmol) de hidrato de hidrazina y se agita durante 12 h a ebullición a una temperatura de baño de 150 °C. Se concentra la solución de reacción enfriada y se seca el residuo a vacío. Se obtienen 1,1 g del compuesto del título, que se usa sin purificación adicional.

CL-EM (procedimiento 1): $T_R= 0,52$ min; EM (ESIpos): $m/z= 153 [M+H]^+$.

Ejemplo 6A

Ácido 6-hidrazinonicotínico



5

Se disponen 5,0 g (31,7 mmol) de ácido 6-cloronicotínico y 30,9 ml (31,8 g, 634,7 mmol) de hidrato de hidrazina en 10 ml de etanol y se agita durante 16 h a ebullición a 100 °C de temperatura de baño. Se separan por destilación el disolvente y el hidrato de hidrazina en exceso en un evaporador rotatorio, se recoge el residuo en agua, a continuación se añaden 1,8 g (31,7 mmol) de hidróxido de potasio y se agita durante 15 min. Se elimina completamente el disolvente en un evaporador rotatorio, se seca el residuo a vacío y se obtienen 7,5 g de producto bruto, que se hace reaccionar adicionalmente como tal.

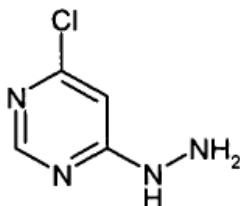
10

CL-EM (procedimiento 1): $T_R= 0,48$ min; EM (ESIpos): $m/z 154 [M+H]^+$.

RMN de 1H (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta= 8,49$ (d, 1H), 7,89 (s a, 1H), 7,84 (dd, 1H), 6,63 (d, 1H), 5,37 (s a, 2H).

Ejemplo 7A

15 4-Cloro-6-hidrazinopirimidina



20

Se añaden gota a gota con agitación 11,8 ml (12,1 g, 241,6 mmol) de hidrato de hidrazina a TA a una solución de 20,0 g (134,3 mmol) de 4,6-dicloropirimidina en 300 ml de etanol. Si aparece turbidez de la solución durante la dosificación del hidrato de hidrazina, se añade etanol adicional (aprox. 400 ml). Se agita después la solución de reacción durante 12 h a TA. Para el procesamiento, se separa por filtración el sólido precipitado, se lava la torta de filtrado dos veces con 150 ml de agua cada vez y dos veces con 100 ml de dietiléter cada vez y se seca el producto a vacío. Se obtiene a partir de las aguas madre concentradas una fracción de producto cristalino adicional.

Rendimiento: 16,8 g (87 % d.t.).

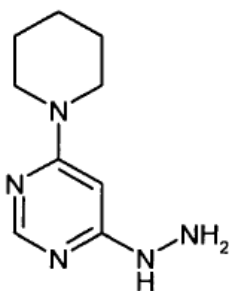
25

CL-EM (procedimiento 1): $T_R= 1,17$ min; EM (ESIpos): $m/z= 145 [M+H]^+$.

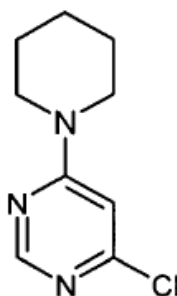
RMN de 1H (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta= 8,81$ (s, 1H), 8,17 (s a, 1H), 6,75 (s, 1H), 4,48 (s a, 2H).

Ejemplo 8A

4-Hidrazino-6-piperidin-1-ilpirimidina



Etapa a): 4-Cloro-6-piperidin-1-ilpirimidina



5

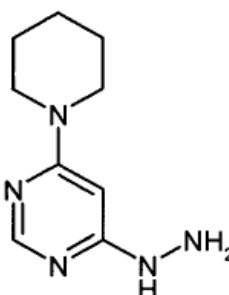
Se agita una mezcla de 10,0 g (67,1 mmol) de 4,6-dicloropirimidina y 5,7 g (67,1 mmol) de piperidina en 100 ml de agua durante 16 h a una temperatura de baño de 115 °C. Después de enfriar a TA, se separa por filtración el precipitado, se lava con agua y se seca a vacío.

10 Rendimiento: 6,4 g (47 % d.t.).

CL-EM (procedimiento 4): $T_R = 2,16$ min; EM (ESIpos): $m/z = 198 [M+H]^+$.

RMN de 1H (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 8,29$ (s, 1H), 6,92 (s, 1H), 3,65-3,58 (m, 4H), 1,66-1,62 (m, 2H), 1,60-1,48 (m, 4H).

Etapa b): 4-Hidrazino-6-piperidin-1-ilpirimidina



15

20 Se añaden gota a gota con agitación 17,7 ml (18,2 g, 364,2 mmol) de hidrato de hidrazina a TA a una solución de 6,0 g (30,4 mmol) de 4-cloro-6-piperidin-1-ilpirimidina en 50 ml de etanol. Se agita después la solución de reacción durante 16 h a 80 °C. Para el procesamiento, se concentra a vacío, se agita el residuo en agua, se separa por filtración el sólido precipitado, se lava la torta de filtrado dos veces con 150 ml de agua cada vez y dos veces con 100 ml de dietiléter cada vez, y se seca el producto a vacío.

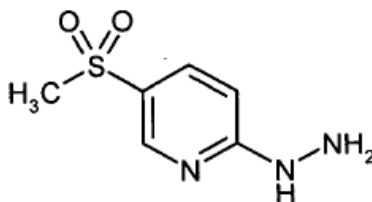
Rendimiento: 4,0 g (69 % d.t.).

CL-EM (procedimiento 1): $T_R = 2,06$ min; EM (ESIpos): $m/z = 194 [M+H]^+$.

RMN de 1H (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 7,91$ (s, 1H), 7,54 (s a, 1H), 5,89 (s, 1H), 4,11 (s a, 2H), 3,50-3,47 (m, 4H), 1,61-1,58 (m, 2H), 1,51-1,46 (m, 4H).

Ejemplo 9A

5 2-Hidrazino-5-(metilsulfonyl)piridina



10 A 2,0 g (8,5 mmol) de 2,5-bis(metilsulfonyl)piridina [Woods y col., *J. Heterocycl. Chem.* 1984, 21, 97-101] en 15 ml de etanol se añaden 1,7 ml (1,7 g, 34,0 mmol) de hidrato de hidrazina y se agita a reflujo durante 4 h. Para el procesamiento, se enfría la solución de reacción a 15 °C, se separa por filtración el sólido precipitado, se lava la torta de filtrado con etanol y dietiléter y se seca el producto a vacío.

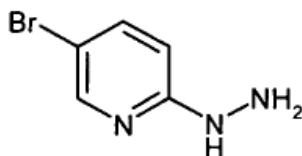
Rendimiento: 1,4 g (89 % d.t.).

CL-EM (procedimiento 1): $T_R = 0,51$ min; EM (ESIpos): $m/z = 188 [M+H]^+$.

RMN de 1H (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 8,56$ (s, 1H), 8,38 (d, 1H), 7,81 (dd, 1H), 6,79 (d, 1H), 4,42 (s, 2H), 3,11 (s, 3H).

15 **Ejemplo 10A**

5-Bromo-2-hidrazinopiridina



20 A una solución de 1,8 g (9,5 mmol) de 5-bromo-2-cloropiridina en 25 ml de etanol a TA con agitación se añaden 9,3 ml (9,5 g, 190,2 mmol) de hidrato de hidrazina y se agita después durante 46 h a 90 °C. Después de concentrar la mezcla de reacción a vacío, se agita el residuo en agua, se separa por filtración el sólido, se lava con agua y dietiléter y se seca a vacío.

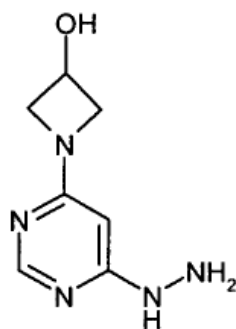
Rendimiento: 0,8 g (44 % d.t.).

CL-EM (procedimiento 8): $T_R = 0,50$ min; EM (ESIpos): $m/z = 188 [M+H]^+$.

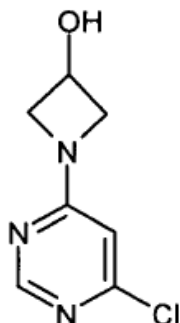
25 RMN de 1H (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 8,02$ (d, 1H), 7,66 (s, 1H), 7,58 (dd, 1H), 6,69 (d, 1H), 4,16 (s, 2H).

Ejemplo 11A

1-(6-Hidrazinopirimidin-4-il)azetidín-3-ol



Etapa a): 1-(6-Cloropirimidin-4-il)azetidin-3-ol



5

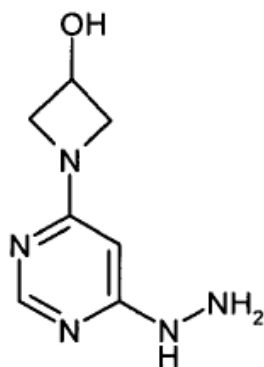
Se disponen 7,2 g (48,7 mmol) de 2,4-dicloropirimidina en 140 ml de agua. Se añade 5,3 g (48,7 mmol) de clorhidrato de 3-hidroxiacetidina y 48,7 ml de sosa cáustica 1 N y se calienta durante 72 h a 90 °C (siendo observable la 2,4-dicloropirimidina como volátil y sedimentando de forma cristalina en el enfriador). Se elimina el disolvente a vacío, se seca el residuo y se obtienen 10,4 g del producto bruto, que se hace reaccionar sin purificación adicional.

10

CL-EM (procedimiento 10): $T_R = 0,36$ min; EM (ESIpos): $m/z = 186$ $[M+H]^+$.

RMN de 1H (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 8,29$ (s, 1H), 6,50 (s, 1H), 4,63-4,57 (m, 1H), 4,26 (t, 2H), 3,82-3,75 (m, 2H).

Etapa b): 1-(6-Hidrazinopirimidin-4-il)azetidin-3-ol



15

Se disponen 960 mg (5,2 mmol) de 1-(6-cloropirimidin-4-il)azetidin-3-ol y 2,5 ml (51,7 mmol) de hidrato de hidrazina en una mezcla de 10 ml de etanol y 10 ml de THF. Se hacen reaccionar durante 1 h a 130 °C en un microondas en modo sencillo (CEM Explorer). Se concentra la mezcla aproximadamente a 20-50 % del volumen líquido original y se deja reposar durante 48 h a TA. Se decanta el sobrenadante del sólido formado y se lava el sólido tres veces

20

respectivamente con 1,5 ml de etanol frío. Se seca a alto vacío.

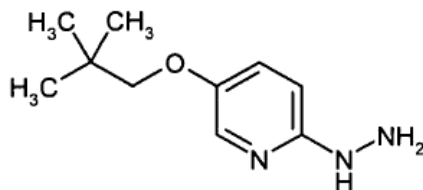
Rendimiento: 300 mg (32 % d.t.).

CL-EM (procedimiento 8): $T_R = 0,23$ min; EM (ESIpos): $m/z = 182$ $[M+H]^+$.

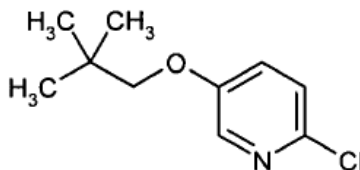
5 RMN de 1H (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 7,88$ (s, 1H), 7,63 (s, 1H), 5,68 (s a, 1H), 5,52 (s, 1H), 4,55 (s a, 1H), 4,18-4,06 (m, 4H), 3,65-3,60 (m, 2H).

Ejemplo 12A

5-(2,2-Dimetilpropoxi)-2-hidrazinopiridina



10 Etapa a): 2-Cloro-5-(2,2-dimetilpropoxi)piridina



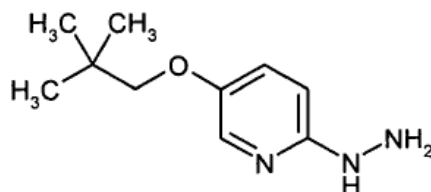
15 Se dividen 5,2 g (40,0 mmol) de 6-cloropiridin-3-ol, 11,9 g (60,0 mmol) de 1-yodo-2,2-dimetilpropano, 19,6 g (60,0 mmol) de carbonato de cesio y 120 ml de dietilenglicoldimetiléter en cinco porciones respectivamente de igual tamaño y se hacen reaccionar en porciones en un microondas en modo sencillo (CEM Explorer) a 160 °C durante 4 h. Se combinan después las cinco mezclas de reacción obtenidas, se separa por filtración el sólido, se lava el sólido con dietilenglicoldimetiléter y se combinan el filtrado y soluciones de lavado. Se elimina la mayor parte del disolvente y se añaden a la solución concentrada (aprox. 50 ml) 300 ml de agua. Se agita durante 30 min, se separa por
20 filtración el sólido obtenido, se lava una vez con agua y se seca a alto vacío.

Rendimiento: 7,0 g (88 % d.t.).

CL-EM (procedimiento 8): $T_R = 2,47$ min; EM (ESIpos): $m/z = 200$ $[M+H]^+$.

RMN de 1H (400 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 8,05$ (d, 1H), 7,25-7,15 (m, 2H), 3,61 (s, 2H), 1,03 (s, 9H).

Etapa b): 5-(2,2-Dimetilpropoxi)-2-hidrazinopiridina



25 Se dividen 6,2 g (30,8 mmol) de 2-cloro-5-(2,2-dimetilpropoxi)piridina conjuntamente con 60 ml (1,2 mol) de hidrato de hidrazina en cuatro porciones respectivamente de igual tamaño y se añaden respectivamente 10 ml de etanol. Se hace reaccionar cada porción en un microondas en modo sencillo (CEM Explorer) a 170 °C (200 vatios)
30 respectivamente durante 12 h. Se combinan después las cuatro mezclas y se elimina el disolvente. Se recoge el residuo en acetato de etilo y se lava una vez con solución saturada de hidrogenocarbonato de sodio y solución saturada de cloruro de sodio. Se seca sobre sulfato de magnesio y se elimina el disolvente a vacío.

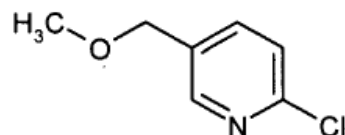
Rendimiento: 6,0 g (76 % d.t.).

CL-EM (procedimiento 8): $T_R = 1,28$ min; EM (ESIpos): $m/z = 196$ $[M+H]^+$.

RMN de 1H (400 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 7,84$ (s, 1H), 7,17 (dd, 1H), 6,68 (d, 1H), 5,54 (s a, 1H), 3,80 (s a, 2H), 3,56 (s, 2H), 1,02 (s, 9H).

5 **Ejemplo 13A**

2-Cloro-5-(metoximetil)piridina



10 Se disuelven 2,6 g (23,0 mmol) de *tert*-butilato de potasio en 50 ml de THF. Se añaden 3,0 g (20,9 mmol) de (6-cloropiridin-3-il)metanol y se agita durante 15 min a TA. Se añaden después 4,4 g (31,3 mmol) de yodometano y se agita aprox. 30 min hasta que decae la reacción ligeramente exotérmica. Se elimina el disolvente, se recoge el residuo en diclorometano y se lava dos veces con agua. Se seca sobre sulfato de magnesio, se concentra y se purifica el residuo con cromatografía en columna en gel de sílice (cromatografía Biotage, fase móvil: ciclohexano:acetato de etilo 85:15).

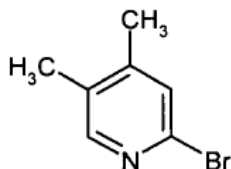
15 Rendimiento: 2,2 g (68 % d.t.).

CL-EM (procedimiento 1): $T_R = 2,62$ min; EM (ESIpos): $m/z = 158$ $[M+H]^+$.

RMN de 1H (400 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 8,34$ (d, 1H), 7,65 (dd, 1H), 7,32 (d, 1H), 4,45 (s, 2H), 3,41 (s, 3H).

Ejemplo 14A

2-Bromo-4,5-dimetilpiridina



20
25
30 Se disponen 71,3 g (0,8 mol) de 2-(dimetilamino)etanol en 500 ml de n-hexano y se enfría a 0 °C. Se añade lentamente 1,0 l (1,6 mol) de solución de n-butil-litio (1,6 M en n-hexano) y se agita durante 15 min a 0 °C. Se añade después gota a gota una solución de 17,9 g (166,7 mmol) de 3,4-lutidina en 500 ml de n-hexano y se agita durante 1 h a 0 °C. A continuación, se enfría a -78 °C y se añade una solución de 331,7 g (1,0 mol) de tetrabromometanol en 1,0 l de THF. Se agita después durante 1 h a -78 °C y se deja calentar después la mezcla de reacción a TA. Se enfría de nuevo a 0 °C y se añade gota a gota lentamente 1,5 l de agua. Se separan las fases, se lava la fase orgánica con agua, se seca sobre sulfato de magnesio y se concentra a vacío. Se prepurifica el residuo en primer lugar en aprox. 1 kg de gel de sílice (fase móvil: ciclohexano/acetato de etilo 9:1, después 7:3). Se combinan las fracciones que contienen producto y se concentran a vacío. Se purifica después el residuo otra vez en gel de sílice (fase móvil: ciclohexano/acetato de etilo 9:1). El producto así obtenido contiene aprox. el 10 % del regioisómero 2-bromo-3,4-dimetilpiridina.

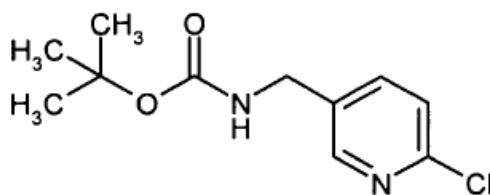
Rendimiento: 6,7 g (20 % d.t.).

CG-EM (procedimiento 14): $T_R = 4,24$ min; EM (ESIpos): $m/z = 187$ $[M+H]^+$.

35 RMN de 1H (400 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 8,07$ (s, 1H), 7,25 (s, 1H), 2,24 (s, 3H), 2,18 (s, 3H).

Ejemplo 15A

[(6-Cloropiridin-3-il)metil]carbamato de *tert*-butilo



- 5 Se disponen 25,0 g (175,3 mmol) de 5-aminometil-2-cloropiridina en 175 ml de diclorometano. Se añaden 175 ml de lejía de sosa al 10 % y se añade gota a gota una solución de 38,3 g (175,3 mmol) de bicarbonato de di-*tert*-butilo en 175 ml de diclorometano. Se agita durante 16 h a TA. Se diluye después con 175 ml de diclorometano, se separa la fase orgánica y se extrae la fase acuosa con 175 ml de diclorometano. Se secan las fases orgánicas combinadas sobre sulfato de magnesio y se concentran a vacío. Se seca el producto a alto vacío.

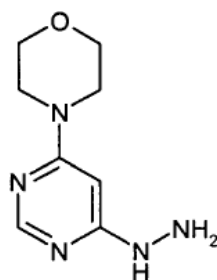
Rendimiento: 42,0 g (99 % d.t.).

CL-EM (procedimiento 7): $T_R=1,58$ min; EM (ESIpos): $m/z= 243$ $[M+H]^+$.

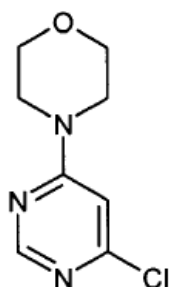
- 10 RMN de 1H (400 MHz, $CDCl_3$): $\delta= 8,31$ (d, 1H), 7,61 (dd, 1H), 7,30 (d, 1H), 4,99 (s a, 1H), 4,30 (d, 2H), 1,46 (s, 9H).

Ejemplo 16A

4-(6-Hidrazinopirimidin-4-il)morfolina



- 15 Etapa a): 4-(6-Cloropirimidin-4-il)morfolina



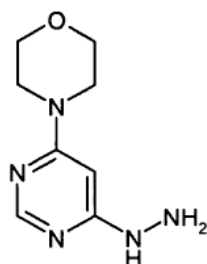
- 20 Se disponen 45,0 g (302,1 mmol) de 4,6-dicloropirimidina en 450 ml de agua. Se añaden 26,3 g (302,1 mmol) de morfolina y se agita durante 16 h a 90 °C. Se enfría después a 0 °C y se separa por filtración el precipitado generado. Se lava el precipitado una vez con 50 ml de agua y se seca al aire.

Rendimiento: 51,0 g (85 % d.t.).

CL-EM (procedimiento 4): $T_R= 1,09$ min; EM (ESIpos): $m/z= 200$ $[M+H]^+$.

RMN de 1H (400 MHz, $DMSO-d_6$): $\delta= 8,35$ (s, 1H), 6,95 (s, 1H), 3,62 (s, 8H).

Etapa b): 4-(6-Hidrazinopirimidin-4-il)morfolina



5 Se disponen 53,0 g (2,7 mmol) de 4-(6-cloropirimidin-4-il)morfolina en 260 ml de etanol. Se añaden 132,9 g (2,7 mmol) de hidrato de hidrazina y se agita durante 16 h a reflujo. Se enfría después a TA y se elimina por destilación aprox. la mitad del disolvente. Se enfría a 0 °C y se separa por filtración el sólido generado. Se lava con etanol frío y se seca el sólido en primer lugar al aire y a continuación a vacío.

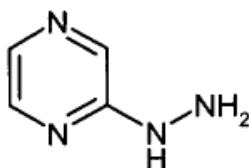
Rendimiento: 35,0 g (68 % d.t.).

CL-EM (procedimiento 1): $T_R = 0,17$ min; EM (ESIpos): $m/z = 196 [M+H]^+$.

10 RMN de 1H (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 7,94$ (s, 1H), 7,70 (s, 1H), 5,91 (s, 1H), 4,15 (s, 2H), 3,66-3,60 (m, 4H), 3,45-3,37 (m, 4H).

Ejemplo 17A

2-Hidrazinopirazina



15

Se añaden gota a gota 20,0 g (174,6 mmol) de 2-cloropirazina a 60,0 ml (61,7 g, 1,2 mol) de hidrato de hidrazina. Se agita durante 45 min a 120 °C de temperatura de baño. Para el procesamiento, se deja reposar la mezcla de reacción enfriada durante 12 h a 2 °C, se separan por filtración los cristales precipitados y se lava la torta de filtrado dos veces con éter de petróleo. Se recristaliza el residuo a continuación con tolueno.

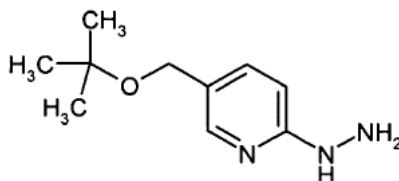
20 Rendimiento: 6,5 g (34 % d.t.).

CL-EM (procedimiento 1): $T_R = 0,49$ min; EM (ESIpos): $m/z = 111 [M+H]^+$.

RMN de 1H (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 8,11$ (s, 1H), 7,94 (s, 1H), 7,90 (s, 1H), 7,70 (d, 1H), 4,29 (s a, 2H).

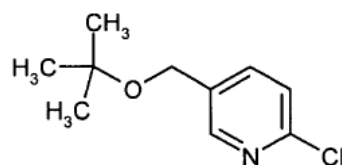
Ejemplo 18A

5-(*tert*-Butoximetil)-2-hidrazinopiridina



25

Etapa a): 5-(*tert*-Butoximetil)-2-cloropiridina



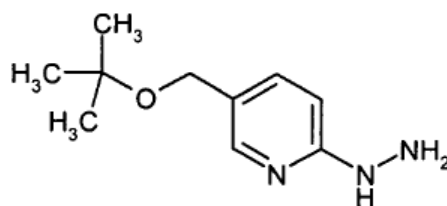
Se disponen 7,2 g (50,0 mmol) de (6-cloropiridin-3-il)metanol en 50 ml de diclorometano. Se añaden 25,1 g (115,0 mmol) de bicarbonato de di-*terc*-butilo y 1,2 g (5,0 mmol) de perclorato de magnesio y se agita durante 24 h a 40 °C. Se enfría después a TA, se añaden otros 12,5 g (87,1 mmol) de bicarbonato de di-*terc*-butilo, así como 600 mg (2,7 mmol) de perclorato de magnesio y se agita de nuevo durante 2,5 h a reflujo. Se añaden otra vez 12,5 g (87,1 mmol) de bicarbonato de di-*terc*-butilo y se agita otras 3 h a reflujo. Se diluye después con diclorometano y se lava una vez con agua y una vez con solución saturada de cloruro de sodio. Se seca sobre sulfato de magnesio, se concentra y se purifica el residuo por cromatografía en columna en gel de sílice (fase móvil: ciclohexano/acetato de etilo 85:15).

5 Rendimiento: 7,9 g (79 % d.t.).

CL-EM (procedimiento 10): $T_R = 1,12$ min; EM (ESIpos): $m/z = 200$ $[M+H]^+$.

RMN de 1H (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 8,36$ (d, 1H), 7,78 (dd, 1H), 6,98 (d, 1H), 4,45 (s, 2H), 1,22 (s, 9H).

Etapa b): 5-(*terc*-Butoximetil)-2-hidrazinopiridina



15

Se dividen 7,9 g (39,6 mmol) de 5-(*terc*-butoximetil)-2-cloropiridina junto con 19,8 g (395,6 mmol) de hidrato de hidrazina en tres porciones respectivamente de igual tamaño y se añaden respectivamente 15 ml de etanol. Se hace reaccionar cada porción en un microondas en modo sencillo (CEM Explorer) a 170 °C respectivamente durante 4 h. Se combinan después las tres mezclas y se elimina el disolvente. Se recoge el residuo en acetato de etilo y se lava una vez con solución saturada de hidrogenocarbonato de sodio. Se extrae la fase acuosa una vez con acetato de etilo. Se combinan ambas fases de acetato de etilo y se lavan una vez con solución saturada de cloruro de sodio. Se seca sobre sulfato de magnesio y se elimina el disolvente. Se agita en éter de petróleo el residuo obtenido y se separa por filtración el sólido.

20

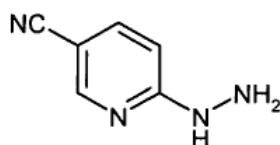
Rendimiento: 1,6 g (21 % d.t.).

25 CL-EM (procedimiento 10): $T_R = 0,77$ min; EM (ESIpos): $m/z = 196$ $[M+H]^+$.

RMN de 1H (400 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 8,08$ (s, 1H), 7,50 (dd, 1H), 6,68 (d, 1H), 5,77 (s a, 1H), 4,32 (s, 2H), 3,80 (s a, 2H), 1,28 (s, 9H).

Ejemplo 19A

6-Hidrazinopiridin-3-carbonitrilo



30

Se agitan 2,0 g (14,4 mmol) de nitrilo de ácido 6-cloronicotínico en 7,0 ml (7,3 g, 144,4 mmol) de hidrato de hidrazina durante 15 min a 100 °C de temperatura de baño. Se diluye la mezcla de reacción enfriada a TA con agua y se agita durante 30 min a TA. Se separa por filtración el precipitado que ha precipitado, se lava la torta de filtrado con agua, se secan los cristales durante una noche al aire y se recrystalizan en acetato de etilo.

35

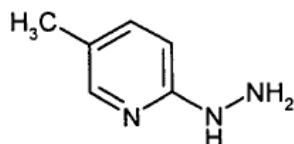
Rendimiento: 1,5 g (80 % d.t.).

CL-EM (procedimiento 1): $T_R = 0,51$ min; EM (ESIpos): $m/z = 135$ $[M+H]^+$.

RMN de 1H (400 MHz, DMSO- d_6): 8,56 (s, 1H), 8,35 (s, 1H), 7,73 (d, 1H), 6,75 (m, 1H), 4,42 (s, 1H).

Ejemplo 20A

5 2-Hidrazino-5-metilpiridina



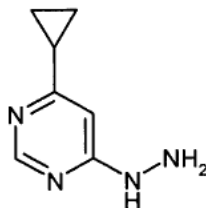
10 Se agita 1,0 g (7,8 mmol) de 2-cloro-5-metilpiridina en 5,7 ml (5,9 g, 117,6 mmol) de hidrato de hidrazina durante 12 h a reflujo. Se añaden a la mezcla de reacción enfriada 10 ml de etilenglicolmonoetiléter y se elimina completamente el disolvente a continuación en un evaporador rotatorio. Se repite esta etapa operativa dos veces, se mezcla el residuo después con diclorometano, se separa por filtración el precipitado, se concentra el filtrado a vacío y se seca el residuo a vacío.

Rendimiento: 644 mg (67 % d.t.).

CL-EM (procedimiento 8): $T_R = 0,35$ min; EM (ESIpos): $m/z = 124$ $[M+H]^+$.

15 **Ejemplo 21A**

4-Ciclopropil-6-hidrazinopirimidina



20 Se agitan 1,6 g (6,9 mmol) de 4-cloro-6-ciclopropilpirimidina [documento FR 1.519.069 (1966), *Chem. Abstr.* 71, 49965y, 1969] y 3,4 ml (3,5 g, 69,0 mmol) de hidrato de hidrazina durante 16 h a una temperatura de baño de 90 °C. Se añade a la mezcla de reacción enfriada etilenglicolmonoetiléter y se concentra a vacío. Se repite una vez este procedimiento. Se somete a cromatografía el residuo a continuación en gel de sílice 60 (fase móvil: acetonitrilo/agua 8:2).

Rendimiento: 0,8 g (69 % d.t.).

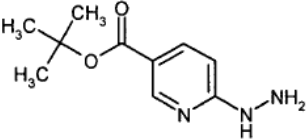
25 CG-EM (procedimiento 14): $T_R = 5,72$ min; EM (ESIpos): $m/z = 151$ $[M+H]^+$.

RMN de 1H (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 8,33$ (s a, 1H), 8,19 (s, 1H), 6,59 (s, 1H), 4,85 (s a, 2H), 1,90-1,87 (m, 1H), 0,96-0,85 (m, 4H).

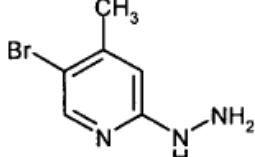
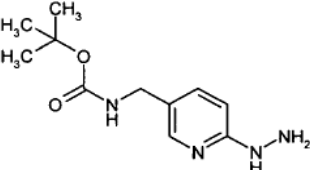
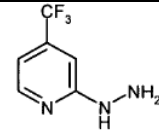
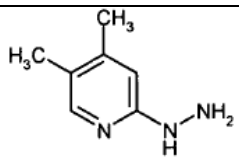
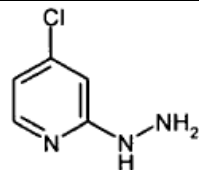
De modo análogo, se preparan los compuestos citados en la siguiente Tabla 1 a partir del reactante dado según las siguientes instrucciones:

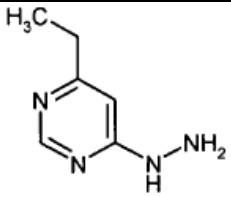
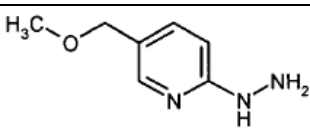
30 Se usa hidrato de hidrazina o una solución 1 M de hidrazina en THF. La reacción puede realizarse también en un microondas en modo sencillo (CEM Explorer o Emrys Optimizer), normalmente en etanol o THF a 150 °C durante un intervalo de aprox. 15 min a 4 h. Se realiza la purificación como se describe en la síntesis del ejemplo 9A o de modo similar, por ejemplo, mediante lavado del sólido precipitado con agua y recristalización con acetato de etilo o mediante agitación con acetato de etilo o éter de petróleo. El hidrato de hidrazina en exceso puede eliminarse
35 mediante recogida del producto bruto, por ejemplo en acetato de etilo, y lavado con solución saturada de hidrogenocarbonato de sodio.

Tabla 1

Nº ejemplo	Estructura	Reactante: síntesis análoga al [ejemplo]; rendimiento (%)	EM (ESI) [M+H] ⁺ ; CL-EM/ CG-EM (procedimiento)	RMN de ¹ H (400 MHz)
22A		Éster <i>tert</i> -butílico del ácido 6-cloronicotínico [19A] 93 %	m/z= 210 T _R = 2,28 min (1)	(DMSO-d ₆): δ= 8,48 (d, 1H), 8,30 (s, 1H), 7,82 (dd, 1H), 6,70 (d, 1H), 4,35 (s, 2H), 1,50 (s, 9H)

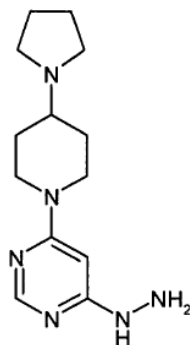
(continuación)

23A		5-Bromo-2-cloro-4-picolina [5A] 67 %	m/z= 202; T _R = 0,86 min (8)	(DMSO-d ₆): δ= 7,99 (s, 1H), 7,52 (s, 1H), 6,70 (s, 1H), 5,51 (s a, 1H), 4,11 (s a, 2H), 2,22 (s, 3H)
24A		15A [19A] 37 %	m/z= 239; T _R = 1,00 min (8)	
25A		2-Cloro-4-(trifluorometil)-piridina [19A] 91 %	m/z= 178; T _R = 0,27 min (10)	(CDCl ₃): δ= 8,23 (d, 1H), 7,00 (s, 1H), 6,83 (dd, 1H), 6,30 (s a, 1H), 3,75 (s a, 2H)
26A		14A [19A] 65 %	m/z= 138; T _R = 0,75 min (8)	(CDCl ₃): δ= 7,86 (s, 1H), 6,51 (s, 1H), 5,61 (s a, 1H), 3,72 (s a, 2H), 2,20 (s, 3H), 2,12 (s, 3H)
27A		2,4-Dicloro-piridina [19A] 47 %	m/z= 144; T _R = 0,23 min (8)	

28A		4-Cloro-6-etilpirimidina [documento US 5.468.751] [19A]	m/z= 139; T _R = 4,94 min (14)	
29A		13A [19A] 45 %	m/z= 154; T _R = 0,20 min (6)	(CDCl ₃): δ= 8,08 (d, 1H), 7,50 (dd, 1H), 6,70 (d, 1H), 5,98 (s a, 1H), 4,33 (s, 2H), 3,72 (s a, 2H), 3,35 (s, 3H)

Ejemplo 30A

5 4-Hidrazino-6-(4-pirrolidin-1-ilpiperidin-1-il)pirimidina



10 Se agita una mezcla de 2,0 g (13,8 mmol) del compuesto del ejemplo 7A y 4,3 g (27,7 mmol) de 4-pirrolidin-1-ilpiperidina en 20 ml de agua durante 16 h a 100 °C. Se separa por filtración el sólido precipitado, se lava en primer lugar con etanol, después con dietiléter y se seca a vacío.

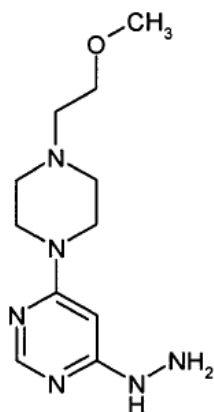
Rendimiento: 3,0 g (82 % d.t.).

CL-EM (procedimiento 8): T_R= 0,21 min; EM (ESIpos): m/z= 263 [M+H]⁺.

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ= 7,92 (s, 1H), 7,58 (s, 1H), 5,91 (s, 1H), 4,17-4,07 (m, 4H), 2,95-2,85 (m, 2H), 2,54 (s, 2H), 2,52-2,46 (m, 2H), 2,24-2,15 (m, 1H), 1,90-1,80 (m, 2H), 1,71-1,61 (m, 4H), 1,39-1,24 (m, 2H).

15 **Ejemplo 31A**

4-Hidrazino-6-[4-(2-metoxietil)piperazin-1-il]pirimidina



5 Se agita una mezcla de 1,0 g (6,9 mmol) del compuesto del ejemplo 7A y 1,1 g (7,6 mmol) de 1-(2-metoxietil)piperazina en 10 ml de agua durante 2 h a 100 °C. Se añaden otros 0,9 g (6,2 mmol) de 1-(2-metoxietil)piperazina y se vuelve a agitar la mezcla de reacción durante 16 h a 100 °C. Después de concentrar a vacío, se agita el residuo en acetonitrilo. Se separa por filtración el sólido precipitado, se lava en primer lugar con etanol, después con dietiléter y se seca a vacío.

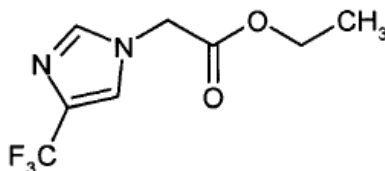
Rendimiento: 0,8 g (42 % d.t.).

CL-EM (procedimiento 8): $T_R = 0,22$ min; EM (ESIpos): $m/z = 253$ $[M+H]^+$.

10 RMN de 1H (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 7,93$ (s, 1H), 7,64 (s, 1H), 5,91 (s, 1H), 4,14 (s, 2H), 3,50-3,40 (m, 6H), 3,24 (s, 3H), 2,47-2,39 (m, 4H).

Ejemplo 32A

Éster etílico del ácido [4-(trifluorometil)-1H-imidazol-1-il]acético



15

20 Se disponen 2,0 g (14,7 mmol) de 4-(trifluorometil)-1H-imidazol en 5,5 ml (4,7 g, 14,7 mmol) de solución de etilato de sodio al 21 % en etanol y se añaden 1,8 ml (2,7 g, 16,2 mmol) de bromoacetato de etilo. Se agita la mezcla de reacción durante 16 h a TA. Para el procesamiento, se separa por filtración el sólido precipitado, se lava la torta de filtrado con etanol y se concentra el filtrado a vacío. Se mezcla el residuo con diisopropiléter, se filtra de nuevo, se vuelve a concentrar el filtrado en un evaporador rotatorio y se seca el residuo a vacío. El producto precipita en forma de una mezcla 9:1 de ambos regioisómeros y se hace reaccionar adicionalmente como tal.

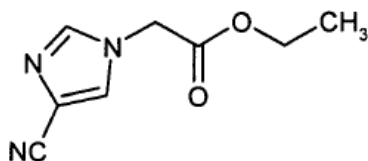
Rendimiento: 3,3 g (95 % d.t.).

CL-EM (procedimiento 1): $T_R = 1,75$ min + 1,80 min; EM (ESIpos): $m/z = 223$ $[M+H]^+$.

25 RMN de 1H (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 7,93$ (s, 1H), 7,82 (s, 1H), 5,04 (s, 2H), [(5,07 (s, 2H)], 4,18 (c, 2H), [4,12 (c, 2H)], 1,22 (t, 3H), [1,19 (t, 3H)].

Ejemplo 33A

Éster etílico del ácido [4-ciano-1H-imidazol-1-il]acético



5 Se disponen 3,3 g (35,3 mmol) de 1*H*-imidazol-4-carbonitrilo [Matthews y col., J. Org. Chem. 1986, 51, 3228-3231] en 13,2 ml (11,5 g, 35,3 mmol) de solución de etilato de sodio al 21 % en etanol y se añaden 4,3 ml (6,5 g, 38,9 mmol) de bromoacetato de etilo. Se agita la mezcla de reacción durante 16 h a TA. Para el procesamiento, se separa por filtración el sólido precipitado, se lava la torta de filtrado con etanol y se concentra el filtrado a vacío. Se mezcla el residuo con diisopropiléter, se filtra de nuevo, se vuelve a concentrar el filtrado en un evaporador rotatorio y se seca el residuo a vacío.

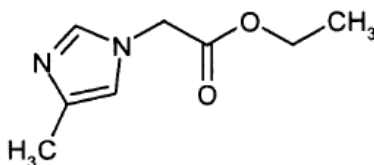
Rendimiento: 3,8 g (60 % d.t.).

10 CL-EM (procedimiento 1): $T_R = 1,17$ min; EM (ESIpos): $m/z = 180$ $[M+H]^+$.

RMN de 1H (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 8,12$ (s, 1H), 7,88 (s, 1H), 5,06 (s, 2H), 4,18 (c, 2H), 1,22 (t, 3H).

Ejemplo 34A

Éster etílico del ácido (4-metil-1*H*-imidazol-1-il)acético



15

Se disponen 4,4 g (53,6 mmol) de 4-metil-1*H*-imidazol en 20,0 ml (17,4 g, 53,6 mmol) de solución de etilato de sodio al 21 % en etanol y se añaden 6,5 ml (9,8 g, 58,9 mmol) de bromoacetato de etilo. Se agita la mezcla de reacción durante 16 h a TA. Para el procesamiento, se separa por filtración el sólido, se lava la torta de filtrado con etanol y se concentra el filtrado a vacío. Se purifica el residuo por cromatografía en columna en gel de sílice (fase móvil: acetonitrilo/agua 9:1). El producto precipita en forma de una mezcla 3:2 de ambos regioisómeros y se hace reaccionar adicionalmente como tal.

20

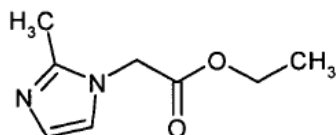
Rendimiento: 1,8 g (20 % d.t.).

CL-EM (procedimiento 1): $T_R = 1,02$ min; EM (ESIpos): $m/z = 169$ $[M+H]^+$.

25 RMN de 1H (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 7,48$ (s, 1H), [7,52 (s, 1H)], 6,82 (s, 1H), [6,64 (s, 1H)], 4,86 (s, 2H), [4,88 (s, 2H)], 4,22-4,11 (m, 2H), 2,07 (s, 3H), [2,06 (s, 3H)], 1,25-1,19 (m, 3H).

Ejemplo 35A

Éster etílico del ácido (2-metil-1*H*-imidazol-1-il)acético



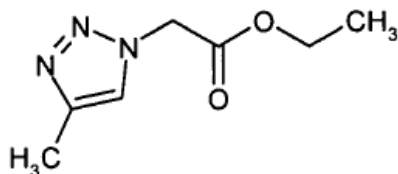
30 Se disponen 2,0 g (24,4 mmol) de 2-metil-1*H*-imidazol en 9,1 ml (7,9 g, 24,4 mmol) de solución de etilato de sodio al 21 % en etanol y se añaden 2,9 ml (4,5 g, 26,8 mmol) de bromoacetato de etilo. Se agita la mezcla de reacción durante 16 h a TA. Para el procesamiento, se separa por filtración el sólido precipitado, se lava la torta de filtrado con etanol y se concentra el filtrado a vacío. Se agita el residuo en diisopropiléter, se filtra de nuevo y se vuelve a concentrar el filtrado a vacío.

Rendimiento: 2,9 g (70 % d.t.).

CL-EM (procedimiento 1): $T_R = 0,49$ min; EM (ESIpos): $m/z = 169$ $[M+H]^+$.

Ejemplo 36A

Éster etílico del ácido (4-metil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)acético



5

10 Se disuelven 2,0 g (14,2 mmol) de ácido (4-metil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)acético en 30 ml de etanol y se añaden 10 gotas de ácido sulfúrico concentrado. Se agita la mezcla de reacción durante 16 h a TA. Para el procesamiento, se concentra la mezcla a vacío, se añade al residuo acetato de etilo y se lava la suspensión con solución semiconcentrada de hidrogenocarbonato de sodio. Se seca la fase orgánica sobre sulfato de magnesio, se elimina completamente el disolvente en un evaporador rotatorio y se seca el sólido a vacío.

Rendimiento: 1,5 g (61 % d.t.).

CL-EM (procedimiento 1): $T_R = 2,33$ min; EM (ESIpos): $m/z = 170$ $[M+H]^+$.

RMN de 1H (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 7,82$ (s, 1H), 5,31 (s, 2H), 4,17 (c, 2H), 2,25 (s, 3H), 1,21 (t, 3H).

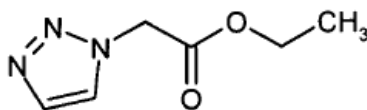
15 Se preparan los compuestos indicados en la Tabla 2 a partir del reactante dado análogamente al ejemplo 36A:

Tabla 2

Nº ejem-plo	Estructura	Reactante; rendimiento (% d.t.)	EM (ESI) $[M+H]^+$; CL-EM (procedimiento)	RMN de 1H (400 MHz, DMSO- d_6)
37A		ácido (4-isopropil-4 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)acético 100 %	$m/z = 198$; $T_R = 1,68$ min (4)	$\delta = 7,84$ (s, 1H), 5,32 (s, 2H), 4,18 (c, 2H), 3,02-2,98 (m, 1H), 1,28-1,19 (m, 9H)
38A		ácido (3-metilisoxazol-5-il)acético 80 %	$m/z = 170$; $T_R = 2,70$ min (1)	$\delta = 6,28$ (s, 1H), 4,12 (c, 2H), 3,95 (s, 2H), 2,21 (s, 3H), 1,21 (t 3H)

Ejemplo 39A

20 Éster etílico del ácido 2-(1*H*-1,2,3-triazol-1-il)acético



- 5 Se añaden lentamente 129,2 g (5,6 mol) de sodio a 4,0 l de etanol. A continuación, se añaden 400,0 g (5,6 mol) de 1,2,3-*H*-triazol, así como gota a gota 623 ml (938,2 g, 5,6 mol) de bromoacetato de etilo a 20-25 °C de temperatura interna. Se agita durante 48 h a TA. Se separa por filtración el sólido precipitado, se elimina el etanol a vacío y se filtra de nuevo. Se recoge el residuo en acetato de etilo, se filtra, se concentra de nuevo a vacío y se purifica por destilación en una columna de 30 cm. Se obtiene el producto a una temperatura de baño de 140 °C, una temperatura de cabeza de 60-115 °C y una presión de 100 Pa.

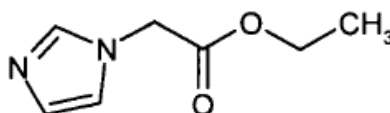
Rendimiento: 440,0 g (50 % d.t.).

- 10 HPLC (procedimiento 11): $T_R = 1,58$ min.

CL-EM (procedimiento 1): $T_R = 0,71$ min, EM (ESIpos): $m/z = 156$ [M+H]⁺.

Ejemplo 40A

Éster etílico del ácido 1*H*-imidazol-1-ilacético



15

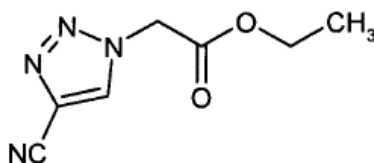
Se añaden lentamente 118,2 g (5,1 mol) de sodio a 2,5 l de etanol. A continuación, se añaden 350,0 g (5,1 mol) de imidazol así como gota a gota 570 ml (858,6 g, 5,1 mol) de bromoacetato de etilo a 20-25 °C de temperatura interna. Se agita durante 24 h a TA. Se separa por filtración el sólido precipitado, se elimina el etanol a vacío y se filtra de nuevo. Se purifica el residuo por cromatografía en columna en gel de sílice (fase móvil: acetato de etilo).

- 20 Rendimiento: 639,0 g (81 % d.t.).

CG-EM (procedimiento 14): $T_R = 4,55$ min; EM (ESIpos): $m/z = 155$ [M+H]⁺.

Ejemplo 41A

Éster etílico del ácido (4-ciano-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)acético



25

- 30 Se agitan 4,1 g (31,9 mmol) de éster etílico del ácido azidoacético y 2,8 g (31,9 mmol) de nitrilo del ácido 2-cloroacrílico en 32 ml de agua durante 16 h a una temperatura de baño de 80 °C. Después de enfriar a TA, se acidifica la solución con ácido clorhídrico 1 N y se extrae con acetato de etilo. Se seca la fase orgánica sobre sulfato de sodio, se filtra y se concentra a vacío. Se añaden al residuo 50 ml de etanol y 10 gotas de ácido sulfúrico concentrado y se agita durante 16 h a reflujo. Para el procesamiento, se concentra a mezcla de reacción a vacío, se mezcla el residuo con acetato de etilo, se lava la suspensión con solución semiconcentrada de hidrogenocarbonato de sodio y se seca la fase orgánica sobre sulfato de sodio. Se elimina completamente el disolvente en un evaporador rotatorio y se seca el sólido a vacío.

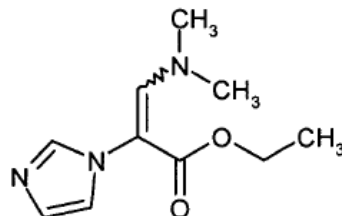
Rendimiento: 1,5 g (25 % d.t.).

- 35 CL-EM (procedimiento 7): $T_R = 0,96$ min; EM (ESIpos): $m/z = 181$ [M+H]⁺.

RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6): δ = 9,06 (s, 1H), 5,57 (s, 2H), 4,19 (c, 2H), 1,22 (t, 3H).

Ejemplo 42A

Éster etílico del ácido 3-(dimetilamino)-2-(1*H*-imidazol-1-il)acrílico



5

Se agitan 38,0 g (244,9 mmol) del compuesto del ejemplo 39A en 126 ml (108,1 g, 734,7 mmol) de dimetilformamida-dimetilacetil durante 16 h a 90 °C de temperatura de baño. Después de enfriar, se concentra a vacío, se agita con diisopropiléter, se separa por filtración el sólido y se lava este a continuación con diisopropiléter.

Rendimiento: 49,0 g (95 % d.t.).

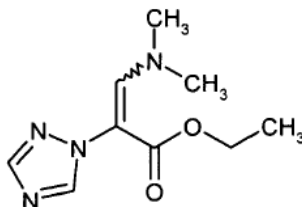
10 CL-EM (procedimiento 4): T_R = 2,42 min; EM (ESIpos): m/z = 211 $[M+H]^+$.

RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6): δ = 7,52 (s, 1H), 7,49 (s, 1H), 7,05 (s, 1H), 6,91 (s, 1H), 4,02 (c, 2H), 2,63 (s a, 6H), 1,12 (t, 3H).

Ejemplo 43A

Éster etílico del ácido 3-(dimetilamino)-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-il)acrílico

15



20 Se agitan 1,9 g (9,8 mmol) de éster etílico del ácido [1,2,4]triazol-1-ilacético [Ainsworth y col., J. Am. Chem. Soc. 1955, 77, 621-623] y 3,6 ml (2,9 g, 19,6 mmol) de dimetilformamida-dietilacetil a 100 °C de temperatura de baño durante 12 h. Para el procesamiento, se concentra la solución de reacción en un evaporador rotatorio y se seca el residuo a vacío.

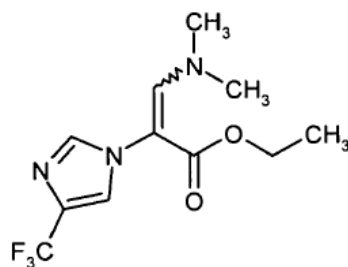
Rendimiento: 2,3 g (90 % de pureza, 100 % d.t.).

CL-EM (procedimiento 1): T_R = 2,32 min; EM (ESIpos): m/z = 211 $[M+H]^+$.

25 RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6): δ = 8,48 (s, 1H), 8,04 (s, 1H), 7,61 (s, 1H), 4,03 (c, 2H), 3,04 (s a, 3H), 2,25 (s a, 3H), 1,12 (t, 3H).

Ejemplo 44A

Éster etílico del ácido 3-(dimetilamino)-2-[4-(trifluorometil)-1*H*-imidazol-1-il]acrílico



5 Se agitan 38,0 g (170,8 mmol) del compuesto del ejemplo 32A y 58,5 ml (50,3 g, 341,6 mmol) de dimetilformamida-dietilacetato a 100 °C de temperatura de baño durante 16 h. Para el procesamiento, se concentra la solución de reacción enfriada en un evaporador rotatorio y se seca el residuo a vacío.

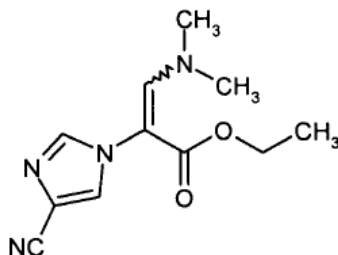
Rendimiento: 49,5 g (97 % d.t.).

CL-EM (procedimiento 8): $T_R = 1,68$ min; EM (ESIpos): $m/z = 278$ $[M+H]^+$.

RMN de 1H (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 7,81$ (s, 1H), 7,27 (s, 1H), 7,58 (s, 1H), 4,03 (c, 2H), 2,68 (s a, 6H), 1,13 (t, 3H).

Ejemplo 45A

10 Éster etílico del ácido 3-(dimetilamino)-2-[4-ciano-1*H*-imidazol-1-il]acrílico



15 Se agitan 3,8 g (21,4 mmol) del compuesto del ejemplo 33A y 7,4 ml (6,3 g, 42,8 mmol) de dimetilformamida-dietilacetato a 100 °C de temperatura de baño durante 16 h. Para el procesamiento, se concentra la solución de reacción enfriada en un evaporador rotatorio y se seca el residuo a vacío.

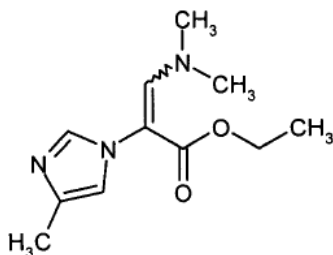
Rendimiento: 5,0 g (73 % de pureza, 73 % d.t.).

CL-EM (procedimiento 1): $T_R = 2,69$ min; EM (ESIpos): $m/z = 235$ $[M+H]^+$.

RMN de 1H (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 8,13$ (s, 1H), 7,85 (s, 1H), 7,58 (s, 1H), 4,03 (c, 2H), 2,69 (s a, 6H), 1,12 (t, 3H).

Ejemplo 46A

20 Éster etílico del ácido 3-(dimetilamino)-2-[4-metil-1*H*-imidazol-1-il]acrílico



25 Se agitan 310 mg (1,5 mmol), 80 % de pureza) del compuesto del ejemplo 34A y 0,5 ml (434 mg, 3,0 mmol) de dimetilformamida-dietilacetato a 100 °C de temperatura de baño durante 16 h. Para el procesamiento, se concentra la solución de reacción enfriada en un evaporador rotatorio y se seca el residuo a vacío. El producto precipita en forma

de una mezcla 3:2 de ambos regioisómeros y se vuelve a hacer reaccionar como tal.

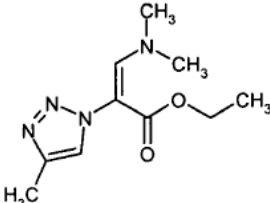
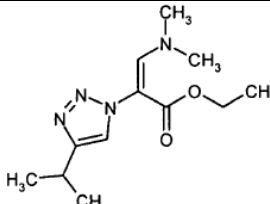
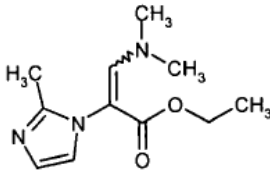
Rendimiento: 329 mg (99 % d.t.).

CL-EM (procedimiento 1): $T_R = 2,05$ min; EM (ESIpos): $m/z = 224$ $[M+H]^+$.

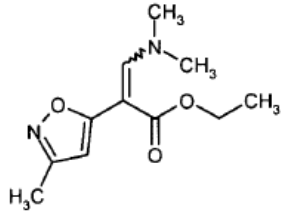
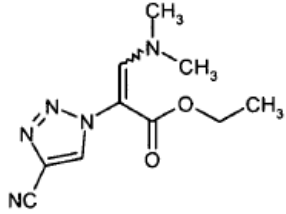
5 RMN de 1H (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 7,50$ (s, 1H), [7,58 (s, 1H)], 7,32 (d, 1H), [7,38 (d, 1H)], 6,73 (s, 1H), [6,66 (s, 1H)], 4,04-3,98 (m, 2H), 2,64 (s a, 6H), 2,08 (s, 3H), [1,97 (s, 3H)], 1,12 (t, 3H).

Los compuestos citados en la Tabla 3 se preparan a partir del reactante dado y dimetilformamida-dietilacetal análogamente al ejemplo 43A:

Tabla 3

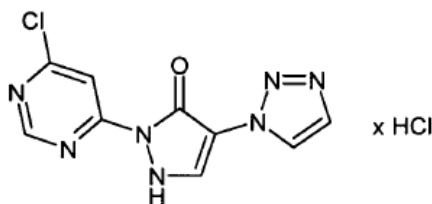
Nº ejemplo	Estructura	Reactante; rendimiento (% d.t.)	EM (ESI) $[M+H]^+$; CL-EM (procedi- miento)	RMN de 1H (400 MHz, DMSO- d_6)
47A		36A	$m/z = 225$; $T_R = 2,59$ min (1)	$\delta = 7,78$ (s, 1H), 7,61 (s, 1H), 4,02 (c, 2H), 3,05 (s a, 3H), 2,12 (s a, 3H), 1,13 (t, 3H)
48A		37A	$m/z = 253$; $T_R = 3,00$ min (1)	$\delta = 7,79$ (s, 1H), 7,62 (s, 1H), 4,03 (c, 2H), 3,08 (s a, 3H), 3,00-2,97 (m, 1H), 2,09 (s a, 3H), 1,23 (d, 6H), 1,13 (t, 3H)
49A		35A	$m/z = 224$; $T_R = 2,03$ min (1)	

(continuación)

50A		38A 75 %	m/z= 225; T _R = 2,91 min (1)	δ= 7,64 (s, 1H), 6,13 (s, 1H), 4,03 (c, 2H), 2,81 (s a, 6H), 2,21 (s, 3H), 1,12 (t, 3H)
51A		41A	m/z= 236; T _R = 1,34 min (8)	δ= 9,14 (s, 1H), 7,75 (s, 1H), 4,04 (c, 2H), 3,15 (s a, 3H), 2,18 (s a, 3H), 1,13 (t, 3H)

Ejemplo 52A

- 5 Clorhidrato de 2-(6-cloropirimidin-4-il)-4-(1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-1,2-dihidro-3*H*-pirazol-3-ona



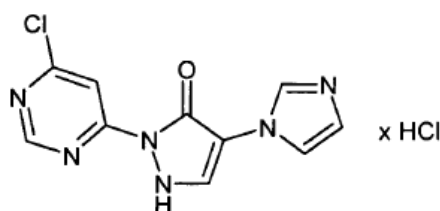
- 10 Se disponen 10,0 g (47,7 mmol) del compuesto del ejemplo 3A y 8,3 g (57,1 mmol) del compuesto del ejemplo 7A en 100 ml de etanol y se añaden 1,5 ml (2,2 g, 19,0 mmol) de TFA. Se agita durante 12 h a reflujo. A continuación, se añade a la mezcla de reacción enfriada una solución de ácido clorhídrico 4 M en dioxano en exceso, se agita aprox. 1 h, se separan por filtración los cristales precipitados y se lava la torta de filtrado con dioxano y etanol. El producto intermedio así obtenido se disuelve en 150 ml de etanol, se añaden 50 ml de solución metanólica de metilato de sodio al 25 % y se agita durante 2 h a TA. A continuación, se ajusta a pH 5 la mezcla de reacción con ácido clorhídrico 1 N, se agita durante otras 2 h a TA, se separa por filtración el sólido, se lava la torta de filtrado con etanol y se seca el producto a vacío.

15 Rendimiento: 7,0 g (49 % d.t.).

CL-EM (procedimiento 10): T_R= 1,20 min; EM (ESIpos): m/z= 264 [M+H]⁺.

Ejemplo 53A

- 20 Clorhidrato de 2-(6-cloropirimidin-4-il)-4-(1*H*-imidazol-1-il)-1,2-dihidro-3*H*-pirazol-3-ona



5 Se disponen 10,0 g (47,8 mmol) del compuesto del ejemplo 42A y 8,3 g (57,3 mmol) del compuesto del ejemplo 7A en 100 ml de etanol y se añaden 1,5 ml (2,2 g, 19,0 mmol) de TFA. Se agita a reflujo durante 12 h. Se separan por filtración los cristales precipitados, se lava después la torta de filtrado con etanol y se seca el producto intermedio durante una noche a vacío. Se suspende este después en 20 ml de metanol, se añaden 100 ml de una solución de ácido clorhídrico 4 M en dioxano y se agita después durante 1 h a TA. Se separa por filtración el sólido, se lava la torta de filtrado con dioxano, acetato de etilo y diisopropiléter y se seca el producto a vacío.

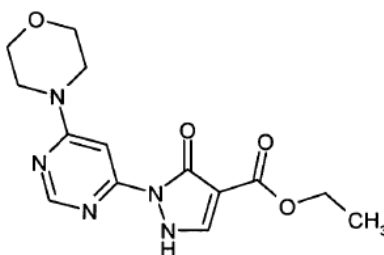
Rendimiento: 4,6 g (32 % d.t.).

HPLC (procedimiento 11): $T_R = 2,81$ min; EM (ESIpos): $m/z = 263$ $[M+H]^+$.

10 RMN de 1H (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 9,46$ (s, 1H), 8,96 (s, 1H), 8,56 (s, 1H), 8,51 (d, 1H), 8,07-8,04 (m, 1H), 7,85-7,82 (m, 1H).

Ejemplo 54A

Éster etílico del ácido 2-(6-morfolin-4-ilpirimidin-4-il)-3-oxo-2,3-dihidro-1H-pirazolílico



15 Se disuelven 1,4 g (10,0 mmol) de carbonato de potasio en 50 ml de agua. Se añaden a ello 2,0 g (10,0 mmol) del compuesto del ejemplo 16A y a continuación 2,2 g (10,0 mmol) de éster dietílico del ácido etoximetilmalónico y se agita después durante 2 h a 100 °C. Se deja enfriar a TA, se separa por filtración el sólido, se lava dos veces con agua y se seca a alto vacío.

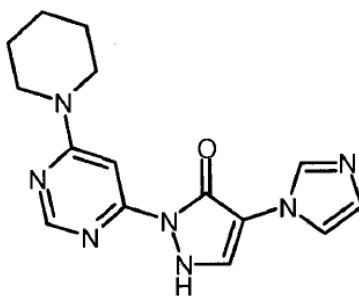
Rendimiento: 2,4 g (75 % d.t.).

20 CL-EM (procedimiento 8): $T_R = 1,31$ min; EM (ESIpos): $m/z = 320$ $[M+H]^+$.

RMN de 1H (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 8,30$ (s, 1H), 7,97 (s, 1H), 7,48 (s, 1H), 4,00 (c, 2H), 3,75-3,61 (m, 4H), 3,55-3,45 (m, 4H), 1,18 (t, 3H).

Ejemplo 1

4-(1H-Imidazol-1-il)-2-(6-piperidin-1-ilpirimidin-4-il)-1,2-dihidro-3H-pirazol-3-ona



25 Se disuelven 5,5 g (26,3 mmol) del compuesto del ejemplo 42A y 6,1 g (31,5 mmol) del compuesto del ejemplo 8A en 55 ml de acetato de etilo y se adiciona 1,2 g (10,5 mmol) de ácido p-toluenosulfónico. Se calienta hasta reflujo y se agita durante 16 h a esta temperatura. Tras enfriamiento a TA se separa el precipitado por filtración y se lava con acetato de etilo. Se disuelve el sólido en 50 ml de agua y se ajusta con ácido clorhídrico 1 N a pH 7. Se separa el precipitado por filtración, se lava con agua y diisopropiléter y a continuación se seca en pentóxido de fósforo.

30

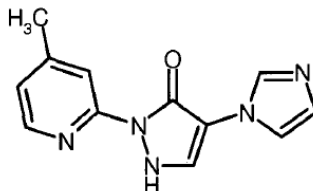
Rendimiento: 7,8 g (95% d.t.)

CL-EM (procedimiento 1): $T_R = 2,32$ min; EM (ESIpos): $m/z = 312$ $[M+H]^+$;

RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6): δ = 9,42 (s, 1H), 8,53 (s, 1H), 8,28 (s, 1H), 8,04 (s, 1H), 7,82 (s, 1H), 7,45 (s, 1H), 3,76-3,72 (m, 4H), 1,74-1,52 (m, 6H).

Ejemplo 2

4-(1*H*-Imidazol-1-il)-2-(4-metilpiridin-2-il)-1,2-dihidro-3*H*-pirazol-3-ona



5

Se disuelven 200 mg (1,0 mmol) del compuesto del ejemplo 42A y 118 mg (1,0 mmol) del compuesto del ejemplo 1A en 2 ml de etanol y se adicionan 44 mg (0,2 mmol) de ácido canfer-10-sulfónico. Se calienta durante 16 horas a reflujo, luego se concentra y se purifica el residuo mediante HPLC preparativa (columna RP18; eluyente: gradiente de acetonitrilo/agua con adición de ácido fórmico al 0,1% en agua).

10

Rendimiento: 4 mg (2% d.t.)

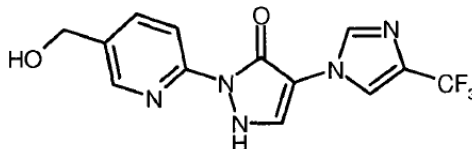
CL-EM (procedimiento 1): T_R = 1,94 min; EM (ESIpos): m/z = 242 $[M+H]^+$;

RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6): δ = 8,34 (d, 1H), 8,18 (s, 1H), 8,12-8,09 (m, 2H), 7,53 (s, 1H), 7,19 (d, 1H), 7,09 (s, 1H), 2,42 (s, 3H).

15

Ejemplo 3

2-[5-(Hidroximetil)piridin-2-il]-4-[4-(trifluorometil)-1*H*-imidazol-1-il]-1,2-dihidro-3*H*-pirazol-3-ona



20

Se disuelven 1,0 g (3,6 mmol) del compuesto del ejemplo 44A y 502 mg (3,6 mmol) del compuesto del ejemplo 4A en 1 ml de ácido acético y se agita durante 16 h a TA. Luego se añaden de nuevo 200 mg (1,4 mmol) del compuesto del ejemplo 4A y se agita otras 20 h a TA. Se recoge la mezcla de reacción en 5 ml de acetato de etilo y se ajusta con solución de hidrogenocarbonato de sodio acuosa diluida a pH 7. Se concentra la fase acuosa a vacío, se adiciona al residuo 1,5 ml (4,0 mmol) de solución de etilato de sodio etanólica al 21% y se agita a 4 h a TA. Se separa el precipitado por filtración y se lava con etanol.

25

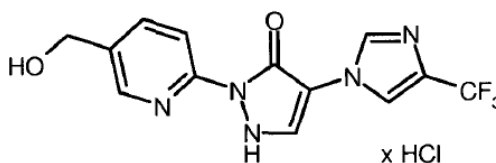
Rendimiento: 111 mg (9% d.t.)

CL-EM (procedimiento 4): T_R = 1,70 min; EM (ESIpos): m/z = 326 $[M+H]^+$;

RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6): δ = 8,44 (s, 1H), 8,39-8,21 (m, 2H), 8,19 (s, 1H), 8,14 (s, 1H), 7,98 (dd, 1H), 5,41 (t, 1H), 4,58 (d, 2H).

Ejemplo 4

30 Clorhidrato de 2-[5-(hidroximetil)piridin-2-il]-4-[4-(trifluorometil)-1*H*-imidazol-1-il]-1,2-dihidro-3*H*-pirazol-3-ona



Se disuelven 7,5 g (27,0 mmol) del compuesto del ejemplo 44A y 3,9 g (27,0 mmol) del compuesto del ejemplo 4A en 50 ml de etanol, se adicionan 1,3 g (5,4 mmol) de ácido canfer-10-sulfónico y se agita durante 16 h a TA. Adicionalmente se disuelven 1,5 g (5,4 mmol) del compuesto del ejemplo 44A y 0,8 g (5,4 mmol) del compuesto del ejemplo 4A en 10 ml de etanol, se adicionan 0,2 g (1,1 mmol) de ácido p-toluenosulfónico y se agita durante 16 h a TA. Ambos preparados se purifican después, se concentran a vacío y se purifica por cromatografía en gel de sílice (eluyente: acetonitrilo/agua 4:1). Tras separación del disolvente se adiciona al sólido 2 ml de una solución 4 N de ácido clorhídrico en dioxano, se concentra a vacío y se seca el residuo.

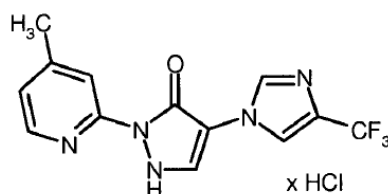
Rendimiento: 1,5 g (14% d.t.)

HPLC (procedimiento 11): $T_R = 3,38$ min; EM (ESIpos): $m/z = 326$ $[M+H]^+$;

10 RMN de 1H (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 8,43$ (s, 1H), 8,39-8,21 (m, 2H), 8,19 (s, 1H), 8,15 (s, 1H), 7,98 (dd, 1H), 5,48-5,38 (m, 1H), 4,57 (d, 2H).

Ejemplo 5

Clorhidrato de 2-(4-metilpiridin-2-il)-4-[4-(trifluorometil)-1H-imidazol-1-il]-1,2-dihidro-3H-pirazol-3-ona



15

Se hace reaccionar 4,1 g (13,4 mmol) del compuesto del ejemplo 44A, 1,9 g (15,7 mmol) del compuesto del ejemplo 1A y 0,5 g (2,7 mmol) de ácido p-toluenosulfónico en una mezcla de 8 ml de THF y 12 ml de etanol durante 1 h a 160° C en un microondas en modo sencillo (CEM Explorer). Tras la separación de todos los componentes volátiles a vacío se adiciona al residuo acetato de etilo y agua. Se lava la fase orgánica separada con solución de cloruro de sodio saturada, se seca en sulfato de sodio y se separa el agente desecante por filtración. El filtrado se concentra a vacío y se somete el producto bruto a cromatografía mediante HPLC preparativa (procedimiento 15). Al liofilizado obtenido se adiciona 5 ml de una solución 4 N de ácido clorhídrico en dioxano, se concentra parcialmente a vacío, se agita la suspensión en acetonitrilo y dietiléter, se separan los cristales por filtración, se lava el residuo del filtro con n-pentano y se seca el producto a vacío.

20

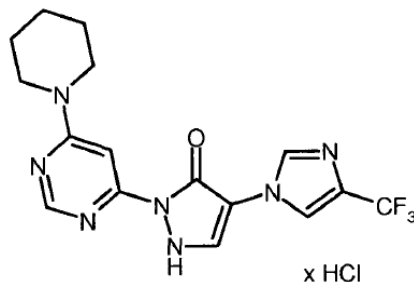
Rendimiento: 0,4 g (9% d.t.)

CL-EM (procedimiento 1): $T_R = 3,11$ min; EM (ESIpos): $m/z = 310$ $[M+H]^+$;

RMN de 1H (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 8,37$ (d, 1H), 8,31 (s, 1H), 8,19 (s, 1H), 8,19 (s, 1H), 8,16 (s, 1H), 8,12 (s, 1H), 7,23 (d, 1H), 2,44 (s, 3H).

Ejemplo 6

Clorhidrato de 2-(6-piperidin-1-ilpirimidin-4-il)-4-[4-(trifluorometil)-1H-imidazol-1-il]-1,2-dihidro-3H-pirazol-3-ona



30

Se hace reaccionar 200 mg (0,7 mmol) del compuesto del ejemplo 44A, 139 mg (0,7 mmol) del compuesto del ejemplo 8A y 24 mg (0,1 mmol) de ácido p-toluenosulfónico en 3 ml de THF durante 1 h a 160° C en un microondas en modo sencillo (CEM Explorer). Tras la separación de todos los componentes volátiles a vacío se somete el residuo a cromatografía mediante HPLC preparativa (columna RP 18; eluyente: gradiente de acetonitrilo/agua con adición de ácido fórmico al 0,1% en agua). A la fracción de producto concentrada se adiciona 2 ml de una solución 4

N de ácido clorhídrico y dietiléter, se separan los cristales precipitados por filtración, se lava el residuo del filtro con dietiléter y se seca el producto a vacío.

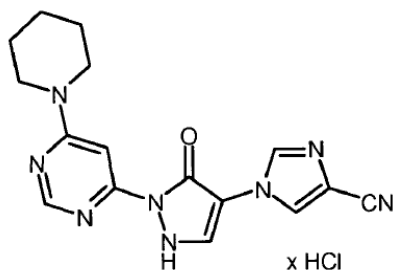
Rendimiento: 72 mg (24% d.t.)

CL-EM (procedimiento 1): $T_R = 3,29$ min; EM (ESIpos): $m/z = 380$ $[M+H]^+$;

- 5 RMN de 1H (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 8,49$ (s, 1H), 8,25 (s, 1H), 8,15 (s, 1H), 8,11 (s, 1H), 7,43 (s, 1H), 3,69 (s, 4H), 1,69-1,66 (m, 2H), 1,58 (s, 9H).

Ejemplo 7

Clorhidrato de 1-[3-oxo-2-(6-piperidin-1-ilpirimidin-4-il)-2,3-dihidro-1H-pirazol-4-il]-1H-imidazol-4-carbonitrilo



- 10 Se disuelven 200 mg (0,9 mmol) del compuesto del ejemplo 45A y 165 mg (0,9 mmol) del compuesto del ejemplo 8A en 2 ml de etanol y se adicionan 29 mg (0,2 mmol) de ácido p-toluenosulfónico. Se agita durante 48 h a 90° C. Tras enfriamiento a TA se concentra la mezcla de reacción y se purifica el residuo mediante HPLC preparativa (columna RP18; eluyente: gradiente de acetonitrilo/agua con adición de ácido fórmico al 0,1%). A la fracción de producto concentrada se adiciona un exceso de una solución 4 N de ácido clorhídrico en dioxano y dietiéter, se separan los cristales precipitados por filtración, se lava el residuo del filtro con dietiléter y se seca el producto a vacío.

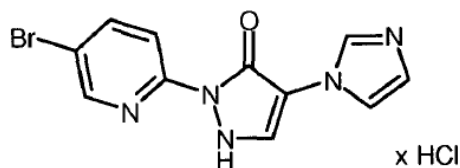
Rendimiento: 18 mg (6% d.t.)

HPLC (procedimiento 11): $T_R = 3,64$ min; EM (ESIpos): $m/z = 337$ $[M+H]^+$;

RMN de 1H (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 8,49$ (s, 1H), 8,40 (s, 1H), 8,21 (s, 1H), 8,18 (s, 1H), 7,42 (s, 1H), 3,75-3,65 (m, 4H), 1,73-1,51 (m, 6H).

20 Ejemplo 8

Clorhidrato de 2-(5-bromopiridin-2-il)-4-(1H-imidazol-1-il-1,2-dihidro-3H-pirazol-3-ona



- 25 Se hace reaccionar una mezcla de 278 mg (1,3 mmol) del compuesto del ejemplo 42A, 250 mg (1,3 mmol) del compuesto del ejemplo 8A y 46 mg (0,3 mmol) de ácido p-toluenosulfónico en 5 ml de THF durante 30 min a 170 °C en un microondas en modo sencillo (Emrys Optimizer). Después de enfriar hasta temperatura ambiente se concentra la mezcla de reacción y se purifica el residuo mediante HPLC preparativa (columna RP18; eluyente: gradiente de acetonitrilo/agua con adición de ácido fórmico al 0,1% en agua). La sal formiato obtenida a este respecto se transforma en el clorhidrato mediante adición de 2 ml de una solución de ácido clorhídrico 4 N en dioxano. Se lava el producto con dietiléter y se seca a vacío.

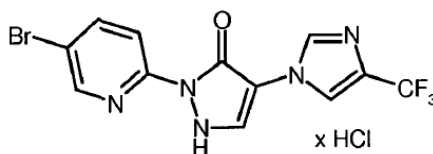
- 30 Rendimiento: 60 mg (13 % d.t.).

CL-EM (procedimiento 8): $T_R=1,04$ min; EM (ESIpos): $m/z= 307$ $[M+H]^+$.

RMN de 1H (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta= 9,49$ (s, 1H), 8,67 (s, 1H), 8,60 (s, 1H), 8,39-8,25 (m, 2H), 8,06 (s, 1H), 7,85 (s, 1H).

Ejemplo 9

- 35 Clorhidrato de 2-(5-bromopiridin-2-il)-4-[4-(trifluorometil)-1H-imidazol-1-il]-1,2-dihidro-3H-pirazol-3-ona



- 5 Se hace reaccionar una mezcla de 369 mg (1,3 mmol) del compuesto del ejemplo 44A, 250 mg (1,3 mmol) del compuesto del ejemplo 10A y 46 mg (0,3 mmol) de ácido p-toluenosulfónico en 5 ml de THF durante 30 min a 170°C en un microondas en modo sencillo (CEM Explorer). Tras adición de 2 ml de ácido fórmico a la solución de reacción se separa el sólido precipitado por filtración, se agita con 3 ml de una solución de 4 N de ácido clorhídrico en dioxano, se separa de nuevo por filtración, en primer lugar con acetonitrilo, luego se lava con dietiléter y se seca a vacío.

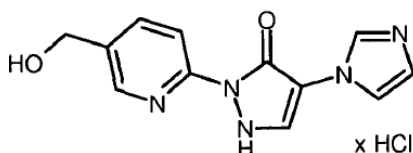
Rendimiento: 163 mg (30% d.t.)

- 10 CL-EM (procedimiento 10): $T_R = 1,06$ min; EM (ESIpos): $m/z = 374 [M+H]^+$;

RMN de 1H (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 8,65$ (s, 1H), 8,45 (s, 1H), 8,38-8,23 (m, 2H), 8,19 (s, 1H), 8,15 (s, 1H).

Ejemplo 10

Clorhidrato de 2-[5-(hidroximetil)piridin-2-il]-4-(1H-imidazol-1-il)-1,2-dihidro-3H-pirazol-3-ona



15

- Se disuelven 200 mg (1,0 mmol) del compuesto del ejemplo 42A y 133 mg (1,0 mmol) del compuesto del ejemplo 4A en 2 ml de etanol y se adicionan 44 mg (0,2 mmol) de ácido canfer-10-sulfónico. Se agita durante 12 h a reflujo. Se concentra la mezcla de reacción enfriada a vacío. Tras purificación de dos veces mediante HPLC preparativa (columna RP18; eluyente: gradiente de acetonitrilo/agua con adición de ácido fórmico al 0,1%) se adiciona a la fracción de producto 1 ml de una solución de 4 N de ácido clorhídrico en dioxano, se agita durante 1 h, se separa el disolvente en el evaporador rotativo completamente y se seca el residuo a vacío.

20

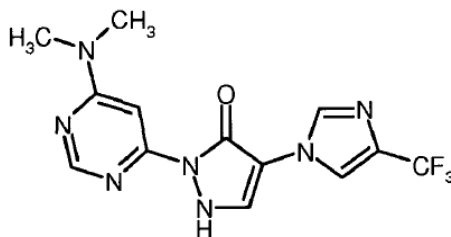
Rendimiento: 86 mg (31 % d.t.)

CL-EM (procedimiento 1): $T_R = 1,77$ min; EM (ESIpos): $m/z = 258 [M+H]^+$;

- 25 RMN de 1H (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 9,50$ (s, 1H), 8,51 (s, 1H), 8,47 (s, 1H), 8,29 (d, 1H), 8,09-8,01 (m, 2H), 7,87 (s, 1H), 3,58 (s, 2H).

Ejemplo 11

2-[6-(Dimetilamino)pirimidin-4-il]-4-[4-(trifluorometil)-1H-imidazol-1-il]-1,2-dihidro-3H-pirazol-3-ona



- 30 Se hacen reaccionar 8,3 g (27,7 mmol) del compuesto del ejemplo 44A, 4,0 g (27,7 mmol) del compuesto del ejemplo 7A y 1,0 g (5,5 mmol) de ácido p-toluenosulfónico in en una mezcla de 10 ml de etanol y 5 ml de THF durante 1 h a 140° C en un microondas en modo sencillo (CEM Explorer). Se separa por filtración el precipitado obtenido, se lava el residuo del filtro con una mezcla de etanol y dietiléter y se seca el producto a vacío.

Rendimiento: 1,3 mg (14% d.t.)

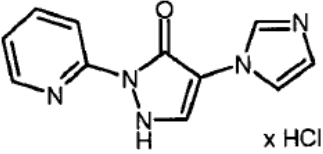
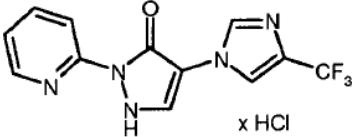
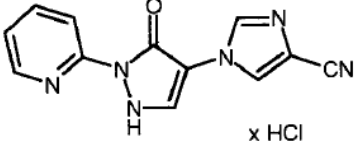
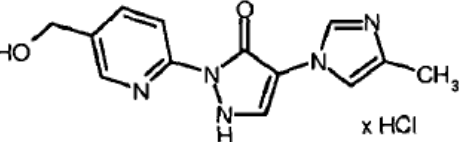
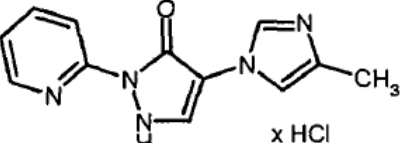
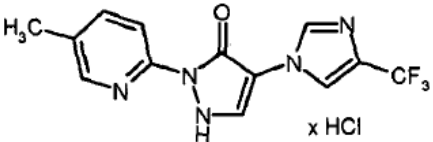
CL-EM (procedimiento 10): $T_R = 0,84$ min; EM (ESIpos): $m/z = 340$ $[M+H]^+$;

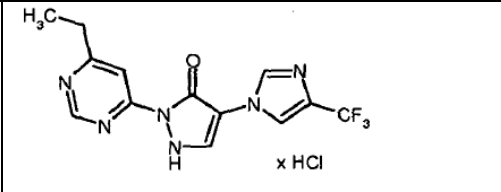
RMN de 1H (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 8,50$ (s, 1H), 8,24 (s, 1H), 8,15 (s, 1H), 8,11 (s, 1H), 7,28 (s, 1H), 2,54 (s, 6H).

Los compuestos indicados en la Tabla 4 se preparan a partir de los correspondientes reactantes análogamente a los ejemplos dados:

5

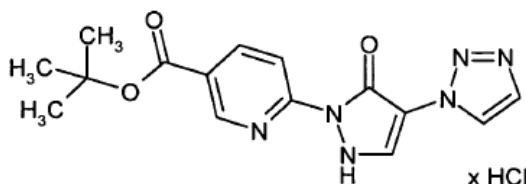
Tabla 4

Nº de ejemplo	Estructura	Reactantes; síntesis análoga al [ejemplo]; rendimiento (% d.t.)	EM (ESI) $[M+H]^+$; CL-EM/ HPLC: T_R (procedimiento)	RMN de 1H (400 MHz, DMSO- d_6)
12		42A [10] 34 %	$m/z = 228$; 1,76 min (proc. 1)	$\delta = 8,49$ (s, 1H), 8,31 (d, 1H), 8,23 (s, 2H), 8,03 (dt, 1H), 7,59 (s, 1H), 7,35 (dt, 1H), 7,16 (s, 1H)
13		44A [10] 5 %	$m/z = 296$; 1,96 min (proc. 4)	$\delta = 8,52$ (d, 1H), 8,42-8,22 (m, 2H), 8,19 (s, 1H), 8,16 (t, 1H), 7,39 (t, 1H)
14		45A [10] 3 %	$m/z = 253$; 2,51 min (proc. 1)	$\delta = 8,52$ (d, 1H), 8,48 (s, 1H), 8,30 (d, 1H), 8,23 (s, 1H), 8,07 (s, 1H), 7,39 (t, 1H)
15		46A, 4A [10] 7 %	$m/z = 272$; 1,92 min (proc. 1)	
16		46A [10] 9%	$m/z = 242$; 1,91 min (proc. 1)	$\delta = 9,42$ (s, 1H), 8,53 (d, 1H), 8,50 (s, 1H), 8,32 (d, 1H), 8,10 (dd, 1H), 7,80 (s, 1H), 7,41 (dd, 1H), 2,36 (s, 3H)
17		44A, 20A [7] 35%	$m/z = 310$; 1,87 min (proc. 8)	$\delta = 8,43$ (d, 2H), 8,19-8,15 (m, 3H), 7,88 (d, 1H), 2,35 (s, 3H)

18		44A, 28A [7] 7 %	m/z= 325; 1,62 min (proc. 10)	δ = 9,03 (s, 1H), 8,58 (s, 1H), 8,30 (d, 1H), 8,21 (s, 1H), 8,17 (s, 1H), 2,85 (c, 2H), 1,28 (t, 3H)
----	-----------------------------------------------------------------------------------	---------------------	-------------------------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Ejemplo 19 (ejemplo comparativo)

Clorhidrato de éster *terc*-butílico del ácido 6-[5-oxo-4-(1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-2,5-dihidro-1*H*-pirazol-1-il]piridin-3-carboxílico



5

Se disponen 3,2 g (15,0 mmol) del compuesto del ejemplo 3A en 100 ml de etanol. Se añaden 3,1 g (15,0 mmol) del compuesto del ejemplo 22A y 571 mg (3,0 mmol) de ácido *p*-toluenosulfónico monohidratado y se agita durante 16 h a reflujo. Se concentra después la mezcla y se purifica el residuo mediante HPLC preparativa (columna RP16; fase móvil: gradiente de acetonitrilo/agua con adición de TFA al 0,1 %). Se combinan las fracciones que contienen producto, se elimina la mayor parte del disolvente y se separa por filtración el sólido generado. Se seca éste a alto vacío y se añade a continuación una solución de ácido clorhídrico 4 N en dioxano. Se agita durante 1 h a TA, se separa por filtración el sólido y se seca a alto vacío.

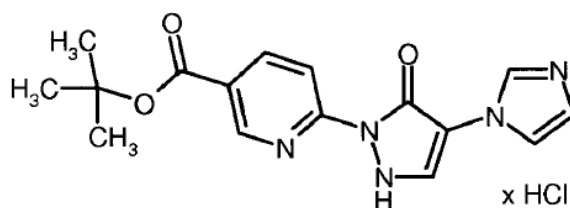
Rendimiento: 1,6 g (28 % d.t.).

15 CL-EM (procedimiento 1): T_R = 3,32 min; EM (ESIpos): m/z = 329 [M+H]⁺.

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 8,94 (s, 1H), 8,53 (s, 1H), 8,50-8,40 (m, 3H), 7,91 (s, 1H), 1,58 (s, 9H).

Ejemplo 20

Clorhidrato de éster *terc*-butílico del ácido 6-[4-(1*H*-imidazol-1-il)-5-oxo-2,5-dihidro-1*H*-pirazol-1-il]piridin-3-carboxílico



20

Se disponen 3,1 g (15,0 mmol) del compuesto del ejemplo 42A en 100 ml de etanol. Se añaden 3,1 g (15,0 mmol) del compuesto del ejemplo 22A y 571 mg (3,0 mmol) de ácido *p*-toluenosulfónico monohidratado y se agita durante 16 h a TA. Se agita otras 24 h a reflujo y se separa luego el disolvente. Se purifica el residuo mediante HPLC preparativa (columna RP18; eluyente: gradiente de acetonitrilo/agua con adición de TFA al 0,1 %). Se purifican las fracciones de producto y se separa la mayor parte del acetonitrilo contenido. Se liofiliza la solución restante. Se adiciona al liofilizado una solución 4 N de ácido clorhídrico en dioxano y se agita 1 h a TA. Se separa el sólido por filtración y se seca a alto vacío.

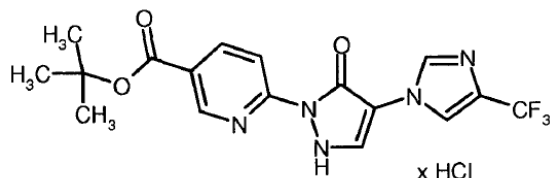
Rendimiento: 1,3 g (23 % d.t.).

30 CL-EM (procedimiento 7): T_R = 0,99 min; EM (ESIpos): m/z = 328 [M+H]⁺.

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 9,55 (s, 1H), 8,94 (s, 1H), 8,70 (s, 1H), 8,53-8,42 (m, 2H), 8,10 (s, 1H), 7,88 (s, 9H), 1,58 (s, 9H).

Ejemplo 21

Clorhidrato de éster *terc*-butílico del ácido 6-[5-oxo-4-[4-trifluorometil]-1H-imidazol-1-il]-2,5-dihidro-1H-pirazol-1-il]piridin-3-carboxílico



5

Se disponen 4,2 g (15,0 mmol) del compuesto del ejemplo 44A en 100 ml de etanol. Se añaden 3,1 g (15,0 mmol) del compuesto del ejemplo 22A y 571 mg (3,0 mmol) de ácido *p*-toluenosulfónico monohidratado y se agita durante 16 h a TA. Se separa luego el disolvente y se purifica el residuo mediante HPLC preparativa (columna RP18; eluyente: gradiente de acetonitrilo/agua con adición de TFA al 0,1 %). Se purifican las fracciones de producto y se separa la mayor parte del acetonitrilo contenido y una parte del agua. Se filtra el sólido que se genera y se seca al aire. A continuación se añaden 20 ml de una solución 4 N de ácido clorhídrico en dioxano y se agita 1 h a TA. Se separa el sólido por filtración y se purifica de nuevo mediante HPLC preparativa (columna RP18; eluyente: gradiente de acetonitrilo/agua con adición de TFA al 0,1 %). Se purifica las fracciones de producto, se adiciona ácido clorhídrico 1 N y se liofiliza.

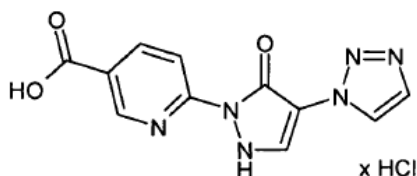
15 Rendimiento: 750 mg (12 % d.t.).

CL-EM (procedimiento 7): $T_R = 2,10$ min; EM (ESIpos): $m/z = 396 [M+H]^+$.

RMN de 1H (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 8,93$ (s, 1H), 8,59-8,38 (m, 3H), 8,19 (s, 1H), 8,14 (s, 1H), 1,59 (s, 9H).

Ejemplo 22 (ejemplo comparativo)

Clorhidrato del ácido 6-[5-oxo-4-(1H-1,2,3-triazol-1-il)-2,5-dihidro-1H-pirazol-1-il]piridin-3-carboxílico



20

Se disuelven 50 mg (0,1 mmol) del compuesto del ejemplo 19 en 1 ml de una mezcla 1:1 de diclorometano y TFA y se agita durante 1 h a TA. Se concentra la solución de reacción a vacío, se suspende el residuo en 2 ml de ácido clorhídrico 1 N y a continuación se liofiliza.

25 Rendimiento: 42 mg (99 % d.t.).

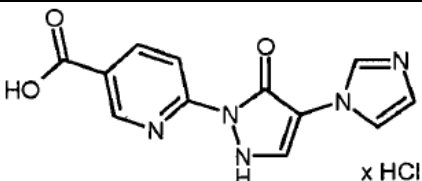
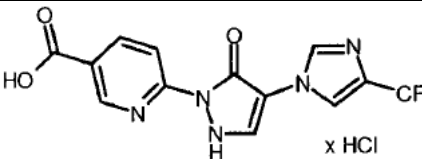
CL-EM (procedimiento 9): $T_R = 0,82$ min; EM (ESIpos): $m/z = 273 [M+H]^+$.

RMN de 1H (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 8,99$ (s, 1H), 8,53 (s, 1H), 8,51-8,41 (m, 3H), 7,91 (s, 1H).

La síntesis de los compuestos finales indicados en la tabla 5 se lleva a cabo de forma análoga al compuesto ejemplo 22:

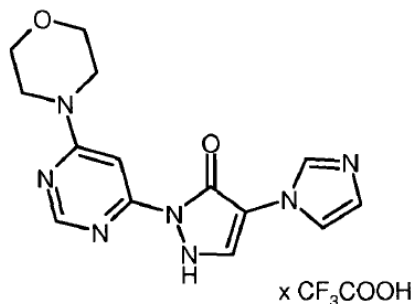
30

Tabla 5

Nº de ejemplo	Estructura	Reactantes; rendimiento (% d.t.)	EM (ESI) [M+H] ⁺ ; CL-EM: T _R (procedimiento)	RMN de ¹ H (400 MHz, DMSO-d ₆)
23		20 98%	m/z= 272; 1,87 min (proc. 1)	δ= 13,50 (sa, 1H), 9,52 (s, 1H), 8,98 (s, 1H), 8,68 (s, 1H), 8,49 (s, 1H), 8,09 (s, 1H), 7,87 (s, 1H)
24		21 92%	m/z= 340; 1,90 min (proc. 4)	δ= 8,89 (s, 1H), 8,51 (s, 1H), 8,48 (s, 2H), 8,21 (s, 1H), 8,18 (s, 1H)

Ejemplo 25

- 5 Trifluoroacetato de 4-(1*H*-imidazol-1-il)-2-(6-morfolin-4-ilpirimidin-4-il)-1,2-dihidro-3*H*-pirazol-3-ona



- 10 Se disuelven 209 mg (1,0 mmol) del compuesto del ejemplo 42A en 7 ml de THF. Se añade 195 mg (1,0 mmol) del compuesto del ejemplo 16A así como 38 mg (0,2 mmol) de ácido p-toluenosulfónico monohidratado a TA y se hace reaccionar luego durante 1 h a 150° C en un microondas en modo sencillo (CEM Explorer). A continuación se purifica la mezcla obtenida directamente mediante HPLC preparativa (columna RP18; eluyente: gradiente de acetonitrilo/agua con adición de TFA al 0,1%).

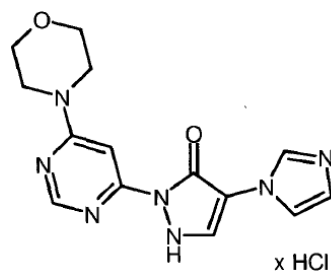
Rendimiento: 71 mg (17% d.t.)

CL-EM (procedimiento 1): T_R = 2,03 min; EM (ESIpos): m/z = 314 [M+H]⁺;

- 15 RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ = 9,38 (s, 1H), 8,57 (s, 1H), 8,31 (s, 1H), 8,02 (s, 1H), 7,79 (s, 1H), 7,47 (s, 1H), 3,72 (s, 8H).

Ejemplo 26

Clorhidrato de 4-(1*H*-imidazol-1-il)-2-(6-morfolin-4-ilpirimidin-4-il)-1,2-dihidro-3*H*-pirazol-3-ona



Se adicionan a 60 mg (0,1 mmol) del compuesto del ejemplo 25 0,5 ml de una solución de 4 N de ácido clorhídrico en dioxano y se agita durante 1 h a TA. Se separa el sólido por filtración, se lava dos veces con 0,5 ml de dioxano cada vez y se seca a continuación a vacío.

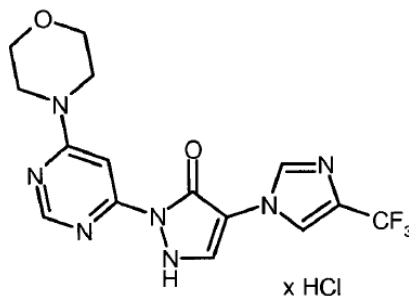
5 Rendimiento: 46 mg (94% d.t.)

CL-EM (procedimiento 1): $T_R = 0,91$ min; EM (ESIpos): $m/z = 314 [M+H]^+$;

RMN de 1H (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 9,46$ (s, 1H), 8,57 (s, 1H), 8,35 (s, 1H), 8,06 (s, 1H), 7,82 (s, 1H), 7,46 (s, 1H), 3,73 (s, 8H).

Ejemplo 27

10 Clorhidrato de 2-(6-morfolin-4-ilpirimidin-4-il)-4-[4-(trifluorometil)-1H-imidazol-1-il]-1,2-dihidro-3H-pirazol-3-ona



15 Se disuelven 309 mg (1,0 mmol) del compuesto del ejemplo 44A en 7 ml de THF. Se añade 195 mg (1,0 mmol) del compuesto del ejemplo 16A así como 38 mg (0,2 mmol) de ácido p-toluenosulfónico monohidratado a TA y se hace reaccionar luego durante 1 h a 150 °C en un microondas en modo sencillo (CEM Explorer). A continuación se purifica la mezcla obtenida directamente mediante HPLC preparativa (columna RP18; eluyente: gradiente de acetonitrilo/agua con adición de TFA al 0,1%). Se reúnen las fracciones de producto obtenidas y se separa el disolvente. Se adiciona al residuo una solución de 4 N de ácido clorhídrico en dioxano. Se agita durante 1 h a TA, se separa el sólido por filtración y se seca a alto vacío.

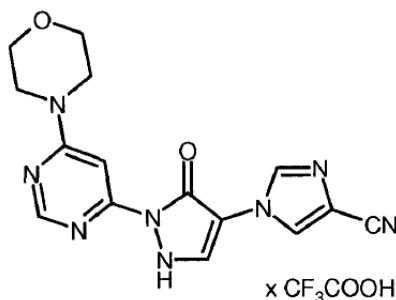
20 Rendimiento: 77 mg (19% d.t.)

CL-EM (procedimiento 7): $T_R = 1,31$ min; EM (ESIpos): $m/z = 382 [M+H]^+$;

RMN de 1H (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 8,53$ (s, 1H), 8,33 (s, 1H), 8,18 (s, 1H), 8,13 (s, 1H), 7,49 (s, 1H), 3,67 (s, 8H).

Ejemplo 28

Trifluoroacetato de 1-[2-(6-morfolin-4-ilpirimidin-4-il)-3-oxo-2,3-dihidro-1H-pirazol-4-il]-1H-imidazol-4-carbonitrilo



5 Se disponen 976 mg (pureza de 72%, 3,0 mmol) del compuesto del ejemplo 45A en 20 ml de THF. Se añade 586 mg (3,0 mmol) del compuesto del ejemplo 16A y 114 mg (0,6 mmol) de ácido p-toluenosulfónico monohidratado y se hace reaccionar luego durante 1 h en un microondas en modo sencillo (CEM Explorer) a 150° C. Se purifica por cromatografía la mezcla de reacción en primer lugar en gel de sílice (cromatografía Biotage; eluyente: diclorometano/metanol 10: 1 con adición de algo de solución de amoníaco acuosa). El producto así obtenido se purifica luego adicionalmente mediante HPLC preparativa dos veces (columna RP18; eluyente: gradiente de acetonitrilo/agua con adición de TFA al 0,1%). Se reúnen las fracciones de producto de la cromatografía de HPLC, se adiciona el mismo volumen de agua y se liofiliza.

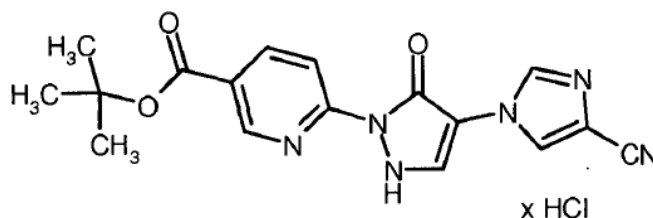
10 Rendimiento: 11 mg (1% d.t.)

CL-EM (procedimiento 4): $T_R = 1,54$ min; EM (ESIpos): $m/z = 339$ $[M+H]^+$;

RMN de 1H (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 8,53$ (s, 1H), 8,42 (s, 1H), 8,29 (s, 1H), 8,19 (s, 1H), 7,46 (s, 1H), 3,70-3,64 (m, 8H).

Ejemplo 29

15 Clorhidrato de éster terc-butílico del ácido 6-[4-(4-ciano-1*H*-imidazol-1-il)-5-oxo-2,5-dihidro-1*H*-pirazol-1-il]piridin-3-carboxílico



20 Se disponen 500 mg (pureza de 72%, 1,5 mmol) del compuesto del ejemplo 45A en 11 ml de THF. Se añade 322 mg (1,5 mmol) del compuesto del ejemplo 22A y 58 mg (0,3 mmol) de ácido p-toluenosulfónico monohidratado y se hace reaccionar durante 3 h a 150° C en un microondas en modo sencillo (CEM Explorer). Se purifica después la mezcla directamente mediante HPLC preparativa (columna RP18; eluyente: gradiente de acetonitrilo/agua con adición de TFA al 0,1%). Se reúnen las fracciones de producto, se concentra, se adiciona una solución 1 N de ácido clorhídrico en dioxano y se deja agitar durante 1 h a TA. Se filtra el precipitado, se lava dos veces con 0,5 ml de dioxano cada vez y se seca a alto vacío.

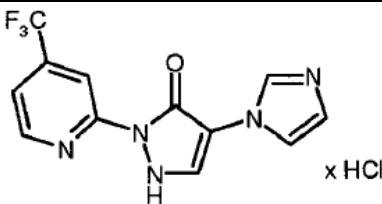
25 Rendimiento: 144 mg (24% d.t.)

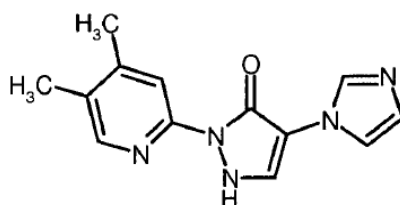
CL-EM (procedimiento 8): $T_R = 2,10$ min; EM (ESIpos): $m/z = 353$ $[M+H]^+$;

RMN de 1H (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 8,94$ (s, 1H), 8,54-8,42 (m, 4H), 8,20 (s, 1H), 1,58 (s, 9H)

30 Los compuestos indicados en la Tabla 6 se preparan a partir de los correspondientes reactantes análogamente a los ejemplos dados. En lugar de ácido canfo-10-sulfónico, puede usarse también ácido tolueno-4-sulfónico monohidratado.

Tabla 6

Nº de ejemplo	Estructura	Reactante; síntesis análoga al [ejemplo]; rendimiento (% d.t.)	EM (ESI) [M+H] ⁺ ; CL-EM/ HPLC: T _R (procedimiento)	RMN de ¹ H (DMSO-d ₆)
30		42A, 25A [7] 64 %	m/z= 296: 0,92 min (proc. 4)	(400 MHz): δ= 9,55 (s, 1H), 8,82 (d, 1H), 8,70 (d, 2H), 8,10 (d, 1H), 7,88 (d, 1H), 7,77 (dd, 1H)



5

Se disponen 262 mg (1,3 mmol) del compuesto del ejemplo 42A y 172 mg (1,3 mmol) del compuesto del ejemplo 26A en 5 ml de etanol. Se añade 48 mg (0,3 mmol) de ácido p-toluenosulfónico monohidratado y se agita durante 24 h a reflujo. Se enfría luego a TA, cristalizando el producto. Se filtra y se lava una vez con etanol y otra vez con éter de petróleo. A continuación se seca a alto vacío.

10

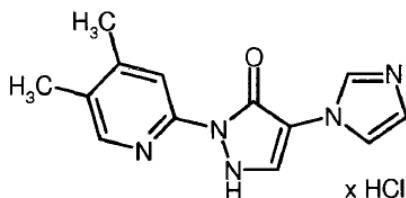
Rendimiento: 65 mg (20% d.t.)

CL-EM (procedimiento 8): T_R = 0,92 min; EM (ESIpos): m/z = 256 [M+H]⁺;

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ = 8,23 (s, 1H), 8,15 (s, 1H), 8,07 (s, 2H), 7,52 (s, 1H), 7,08 (s, 1H), 2,36 (s, 3H), 2,26 (s, 3H).

15 Ejemplo 32

Clorhidrato de 2-(4,5-dimetilpiridin-2-il)-4-(1H-imidazol-1-il)-1,2-dihidro-3H-pirazol-3-ona



Se adicionan a 200 mg (0,5 mmol) del compuesto del ejemplo 31 5 ml de una solución de 4 N de ácido clorhídrico en dioxano y se agita durante 1 h a TA. A continuación se separa por filtración, se lava una vez con dioxano y otra vez con terc-butilmetiléter y se seca a alto vacío.

20

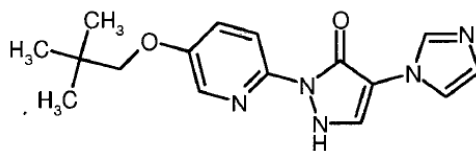
Rendimiento: 117 mg (74% d.t.)

CL-EM (procedimiento 10): T_R = 0,28 min; EM (ESIpos): m/z = 256 [M+H]⁺;

RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6): δ = 9,50 (s, 1H), 8,40 (s, 1H), 8,26 (s, 1H), 8,13 (s, 1H), 8,08 (s, 1H), 7,87 (s, 1H), 2,40 (s, 3H), 2,28 (s, 3H).

Ejemplo 33

2-[5-(2,2-Dimetilpropoxi)piridin-2-il]-4-(1*H*-imidazol-1-il)-1,2-dihidro-3*H*-pirazol-3-ona



5

Se disponen 233 mg (1,0 mmol, pureza 90%) del compuesto del ejemplo 42A en 4 ml de etanol. Se añade 260 mg (1,0 mmol, pureza 75%) del compuesto del ejemplo 12A y 38 mg (0,2 mmol) de ácido p-toluenosulfónico monohidratado y se agita durante 16 h a reflujo. Se deja enfriar luego a TA, se separa el sólido precipitado por filtración, se lava con un poco de etanol y se seca el sólido a alto vacío. Se obtiene una cantidad adicional del compuesto final, purificando la mezcla madre de la filtración mediante HPLC preparativa (columna RP18; eluyente: gradiente de acetonitrilo/agua con adición de TFA al 0,1%).

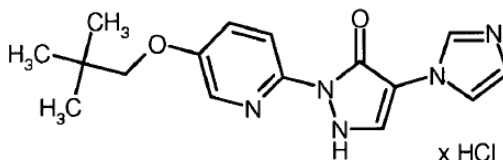
Rendimiento: 264 mg (78% d.t.)

CL-EM (procedimiento 10): T_R = 0,88 min; EM (ESIpos): m/z = 314 $[M+H]^+$;

15 RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6): δ = 8,22-8,08 (m, 4H), 7,67-7,62 (dd, 1H), 7,52 (s, 1H), 7,10 (s, 1H), 3,75 (s, 2H), 1,02 (s, 9H).

Ejemplo 34

Clorhidrato de 2-[5-(2,2-dimetilpropoxi)piridin-2-il]-4-(1*H*-imidazol-1-il)-1,2-dihidro-3*H*-pirazol-3-ona



20

Se adicionan a 200 mg (0,638 mmol) del compuesto del ejemplo 33 5 ml de una solución de 4 N de ácido clorhídrico en dioxano y se agita durante 30 min a TA. A continuación se separa por filtración, se lava una vez con dioxano y dos veces con terc-butilmetiléter y a continuación se seca a alto vacío.

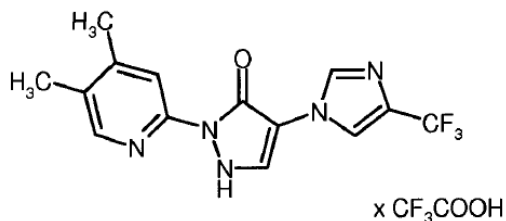
Rendimiento: 129 mg (64% d.t.)

25 CL-EM (procedimiento 10): T_R = 0,87 min; EM (ESIpos): m/z = 314 $[M+H]^+$;

RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6): δ = 9,52 (s, 1H), 8,46 (s, 1H), 8,22 (d, 1H), 8,18-8,15 (d, 1H), 8,07 (s, 1H), 7,87 (s, 1H), 7,71-7,68 (dd, 1H), 3,79 (s, 2H), 1,02 (s, 9H).

Ejemplo 35

Trifluoroacetato de 2-(4,5-dimetilpiridin-2-il)-4-[4-(trifluorometil)-1*H*-imidazol-1-il]-1,2-dihidro-3*H*-pirazol-3-ona



30

Se disponen 347 mg (1,3 mmol) del compuesto del ejemplo 44A y 171 mg (1,3 mmol) del compuesto del ejemplo 26A en 5 ml de etanol. Se añade 48 mg (0,3 mmol) de ácido p-toluenosulfónico monohidratado y se agita durante 16 h a reflujo. Se purifica la solución de reacción directamente mediante HPLC preparativa (columna RP18; eluyente: gradiente de acetonitrilo/agua con adición de TFA al 0,1%). Las fracciones de producto se reúnen y se concentran parcialmente. Se separa el sólido por filtración, se lava con agua y se seca a alto vacío.

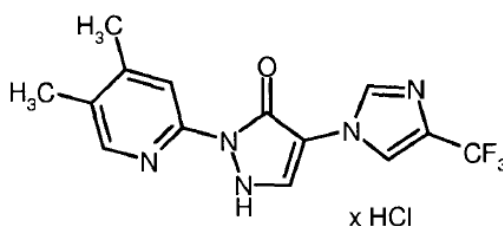
Rendimiento: 84 mg (15% d.t.)

CL-EM (procedimiento 8): $T_R = 1,88$ min; EM (ESIpos): $m/z = 324$ $[M+H]^+$;

RMN de 1H (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 8,27$ (s, 1H), 8,25 (s, 1H), 8,18 (s, 1H), 8,15 (s, 1H), 8,08 (s, 1H), 2,38 (s, 3H), 2,27 (s, 3H).

10 **Ejemplo 36**

Clorhidrato de 2-(4,5-dimetilpiridin-2-il)-4-[4-(trifluorometil)-1H-imidazol-1-il]-1,2-dihidro-3H-pirazol-3-ona



Se adicionan a 80 mg (0,2 mmol) del compuesto del ejemplo 35 2,5 ml de una solución de 4 N de ácido clorhídrico en dioxano y se agita durante 1 h a TA. Se separa el sólido por filtración, se lava una vez con dioxano y otra vez con terc-butilmetiléter y a continuación se seca a alto vacío.

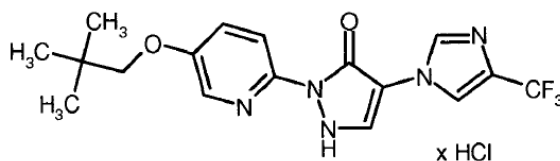
Rendimiento: 65 mg (99% d.t.)

CL-EM (procedimiento 10): $T_R = 1,03$ min; EM (ESIpos): $m/z = 324$ $[M+H]^+$;

RMN de 1H (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 8,27$ (s, 1H), 8,25 (s, 1H), 8,18 (s, 1H), 8,13 (s, 1H), 8,07 (s, 1H), 2,37 (s, 3H), 2,27 (s, 3H).

20 **Ejemplo 37**

Clorhidrato de 2-[5-(2,2-Dimetilpropoxi)piridin-2-il]-4-[4-(trifluorometil)-1H-imidazol-1-il]-1,2-dihidro-3H-pirazol-3-ona



Se disponen 308 mg (1,0 mmol, pureza 90%) del compuesto del ejemplo 44A en 4 ml de etanol. Se añade 260 mg (1,0 mmol, pureza 75%) del compuesto del ejemplo 12A y 38 mg (0,2 mmol) de ácido p-toluenosulfónico monohidratado y se agita durante 16 h a reflujo. Se concentra luego y se purifica el residuo por HPLC preparativa (columna RP18; eluyente: gradiente de acetonitrilo/agua con adición de TFA al 0,1%). Se reúnen las fracciones que contienen producto y se separa el disolvente. Se adiciona al residuo 5 ml de una solución de 4 N de ácido clorhídrico en dioxano y se agita durante 30 min. Se separa el sólido por filtración y se seca a alto vacío.

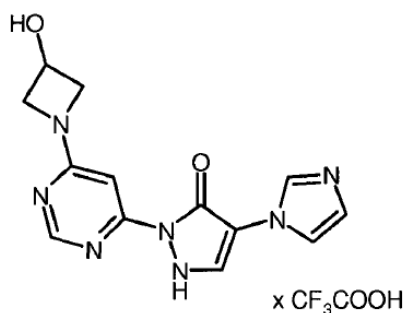
Rendimiento: 140 mg (34% d.t.)

CL-EM (procedimiento 10): $T_R = 1,38$ min; EM (ESIpos): $m/z = 382$ $[M+H]^+$;

RMN de 1H (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 8,29$ (s, 1H), 8,21-8,12 (m, 4H), 7,71-7,68 (dd, 1H), 3,76 (s, 2H), 1,02 (s, 9H).

35 **Ejemplo 38**

Trifluoroacetato de 2-[6-(3-hidroxiazetidín-1-il)pirimidín-4-il]-4-(1H-imidazol-1-il)-1,2-dihidro-3H-pirazol-3-ona



5 Se suspenden 400 mg (1,3 mmol) del compuesto del ejemplo 53A, 518 mg (4,0 mmol) de *N,N*-diisopropilamina y 293 mg (2,6 mmol) de clorhidrato de azetidín-3-ol en 8 ml de etanol. Se hace reaccionar durante 30 min a 120° C en un microondas en modo sencillo (CEM Explorer). Tras filtración se purifica la solución de reacción mediante HPLC preparativa (columna RP18; eluyente: gradiente de acetonitrilo/agua con adición de TFA al 0,1%). Se concentran las fracciones que contienen producto, se agita el residuo en una mezcla de 5 ml de *terc*-butilmetiléter y 10 ml de metanol y luego se succiona. Después se purifica de nuevo mediante HPLC preparativa (columna RP18; eluyente: gradiente de acetonitrilo/agua con adición de TFA al 0,1%). Se reúnen las fracciones que contienen producto, se concentran y se seca el residuo a alto vacío.

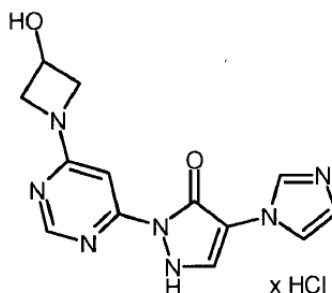
Rendimiento: 115 mg (21% d.t.)

CL-EM (procedimiento 8): T_R = 0,80 min; EM (ESIpos): m/z = 300 [M+H]⁺;

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ = 9,38 (s, 1H), 8,50 (s, 1H), 8,23 (s, 1H), 8,02 (t, 1H), 7,80 (t, 1H), 6,97 (s, 1H), 4,70-4,61 (m, 1H), 4,47-4,38 (m, 2H), 3,98-3,90 (m, 2H).

15 **Ejemplo 39**

Clorhidrato de 2-[6-(3-hidroxiacetidin-1-il)pirimidin-4-il]-4-(1*H*-imidazol-1-il)-1,2-dihidro-3*H*-pirazol-3-ona



20 Se agitan 100 mg (0,2 mmol) del compuesto del ejemplo 38 con 3 ml de una solución de 4 N de ácido clorhídrico en dioxano. Se separa el sólido por filtración, se lava dos veces con *terc*-butilmetiléter y se seca a alto vacío.

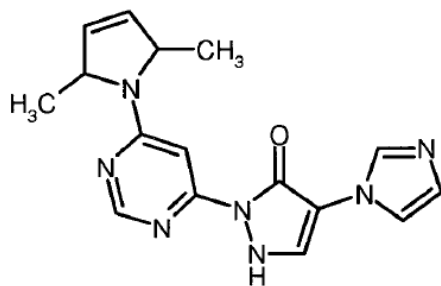
Rendimiento: 78 mg (96% d.t.)

CL-EM (procedimiento 8): T_R = 0,80 min; EM (ESIpos): m/z = 300 [M+H]⁺;

25 RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ = 9,42 (s, 1H), 8,50 (s, 1H), 8,25 (s, 1H), 8,03 (t, 1H), 7,82 (t, 1H), 6,97 (s, 1H), 4,69-4,60 (m, 1H), 4,47-4,37 (m, 2H), 3,99-3,90 (m, 2H).

Ejemplo 40

2-[6-(2,5-Dimetil-2,5-dihidro-1*H*-pirrol-1-il)pirimidin-4-il]-4-(1*H*-imidazol-1-il)-1,2-dihidro-3*H*-pirazol-3-ona



Se disuelven 2,9 g (9,6 mmol) del compuesto del ejemplo 53A en 40 ml de DMF y se proporciona como solución madre.

- 5 Se disponen 19 mg (0,1 mmol) de 2,5-dimetil-2,5-dihidro-1H-pirrol en 200 μ l de DMF y se añaden consecutivamente 400 μ l (0,1 mmol) de la solución madre del compuesto del ejemplo 53A y 35 mg (0,3 mmol) de carbonato de potasio. Se agita la mezcla de reacción durante 16 h a 100 °C. Para el procesamiento, se filtra la suspensión y se somete a cromatografía el filtrado mediante CL-EM preparativa (procedimiento 16). Se concentran las fracciones de producto a vacío y se seca el residuo.
- 10 Rendimiento: 5 mg (16 % d.t.).

CL-EM (procedimiento 16): T_R = 1,42 min; EM (ESIpos): m/z = 324 $[M+H]^+$.

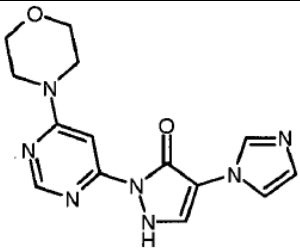
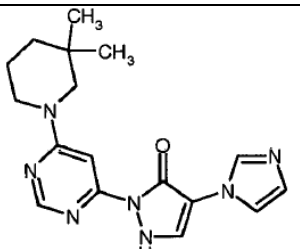
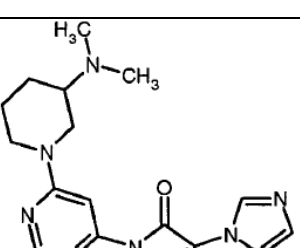
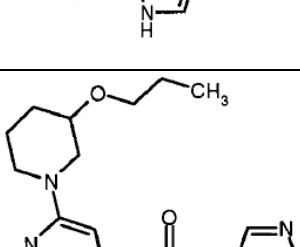
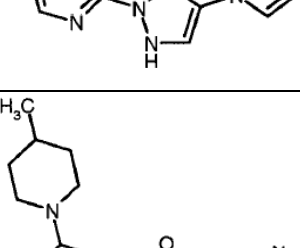
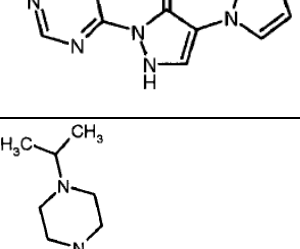
Análogamente a las instrucciones de trabajo del ejemplo 40, se preparan los compuestos indicados en la Tabla 7 a partir de 0,1 mmol del compuesto del ejemplo 53A y 0,1 mmol de la correspondiente amina secundaria:

Tabla 7

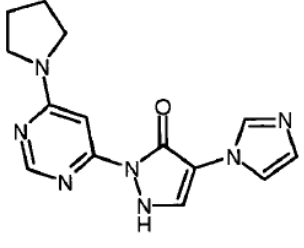
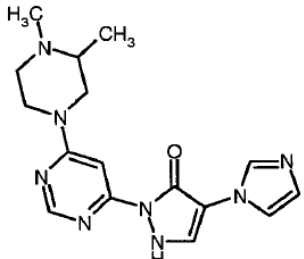
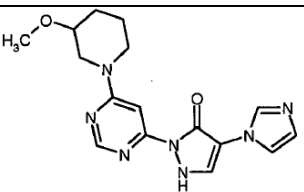
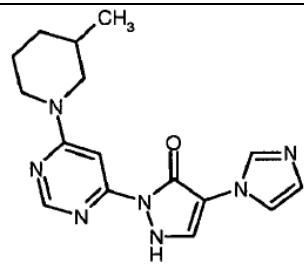
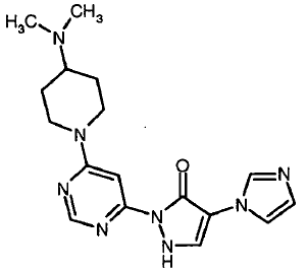
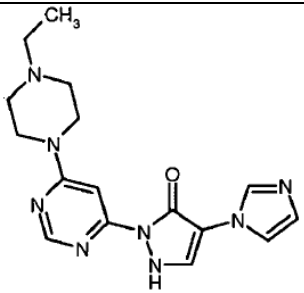
15

Nº de ejemplo	Estructura	Rendimiento (% d.t.)	EM (ESI) $[M+H]^+$; CL-EM; T_R (proc. 16)
41		16 %	m/z = 351; 1,28 min
42		10 %	m/z = 312; 1,34 min
43		13 %	m/z = 295; 1,27 min

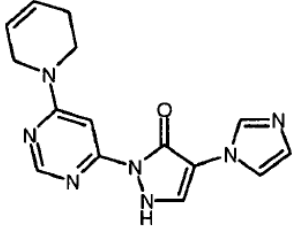
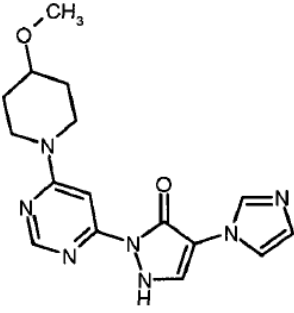
(continuación)

44		17 %	m/z= 314; 1,21 min
45		33 %	m/z= 340; 1,51 min
46		91%	m/z= 355; 1,05 min
47		89 %	m/z= 370; 1,46 min
48		73 %	m/z= 326; 1,46 min
49		97 %	m/z= 355; 1,04 min

(continuación)

50		36 %	m/z= 298; 1,27 min
51		58 %	m/z= 341; 1,01 min
52		60 %	m/z= 342; 1,30 min
53		86 %	m/z= 326; 1,46 min
55		60 %	m/z= 355; 1,04 min
56		64 %	m/z= 341; 1,00 min

(continuación)

57		67 %	m/z= 310; 1,35 min
58		66 %	m/z= 342; 1,30 min

Se usa la sustancia de ensayo preferentemente, pero no exclusivamente, a concentraciones entre 1 nM y 100 μ M. Mediante un triple lavado de la placa con tampón de lavado, se detiene la reacción.

5

Para la determinación cuantitativa de la prolilhidroxilación, se añade una proteína de fusión, que contiene tanto tioredoxina de *E. coli* como el complejo VBC, en 80 μ l de tampón de unión (Tris 50 mM, pH 7,5, NaCl 120 mM). Después de 15 minutos, se añaden 10 μ l de una solución de anticuerpo policlonal anti-tioredoxina de conejo en tampón de unión. Después de otros 30 minutos, se añaden 10 μ l de una solución de inmunoglobulina anti-conejo acoplada con peroxidasa de rábano picante en tampón de unión. Después de 30 minutos de incubación a temperatura ambiente, se lava tres veces con tampón de lavado para eliminar el complejo VBC y anticuerpo no unidos. Para determinar la cantidad de complejo VBC unida, se incuba durante 15 minutos con TMB. Se termina la reacción de coloración mediante la adición de 100 μ l de ácido sulfúrico 1 M. Mediante la medida de la densidad óptica a 450 nm, se determina la cantidad de complejo VBC unido. Es proporcional a la cantidad de prolina hidroxilada en el sustrato peptídico.

Para la detección de la prolilhidroxilación, puede usarse como alternativa un complejo VBC acoplado con europio (compañía Perkin Elmer). En este caso, se determina la cantidad de complejo VBC unido mediante la fluorescencia liberada con el tiempo. Además, es posible el uso de complejo VBC marcado con [³⁵S]-metionina. Para ello, puede prepararse complejo VBC marcado mediante transcripción-traducción *in vitro* en lisado de reticulocitos.

20 Los ejemplos de realización inhiben la actividad HIF-prolilhidroxilasa en este ensayo con un valor de $CI_{50} \leq 30 \mu$ M. En la siguiente Tabla 1, se reproducen valores de CI_{50} representativos de los ejemplos de realización.

Tabla 1

Nº de ejemplo	CI_{50} [μ M]
1	0,5
3	0,75
16	2
18	1,4
19	0,05

Nº de ejemplo	CI ₅₀ [µM]
32	2,8
39	1,7
52	0,69

1.b) Ensayo *in vitro* celular funcional:

5 Se realiza la cuantificación de la actividad de los compuestos según la invención con la ayuda de una línea celular recombinante. Las células derivan originalmente de una línea celular de carcinoma pulmonar humano (A549; ATCC: American Type Culture Collection, Manassas, VA 2018, EE.UU.). La línea celular de ensayo se transfecta establemente con un vector que contiene el gen informador de luciferasa de *Photinus pyralis* (citada en adelante como luciferasa) bajo el control de un promotor mínimo artificial. El promotor mínimo está compuesto por dos elementos responsables de la hipoxia cadena arriba de una caja TATA [Oehme F., Ellinghaus P., Kolkhof P., Smith T.J., Ramakrishnan S., Hütter J., Schramm M., Flamme I., Biochem. Biophys. Res. Commun. 296(2), 343-349 (2002)].
 10 Bajo la influencia de la hipoxia (por ejemplo, cultivando en presencia de 1 % de oxígeno durante 24 horas), o bajo la influencia de inhibidores de dioxigenasa no selectivos (por ejemplo, desferroxamina a una concentración de 100 µM, cloruro de cobalto a una concentración de 100 µM o éter dietílico de *N*-oxalilglicina a una concentración de 1 mM), la línea celular de ensayo produce luciferasa, que con la ayuda

Nº de ejemplo	CI ₅₀ [µM]
45	0,78
50	1,4
55	2
60	1,4
61	1,1
62	0,05
72	0,49
83	1,9
85	0,19
91	2,8
101	1,7
103	0,35
113	0,74
129	0,36
166	0,69

15 **1.b) Ensayo *in vitro* celular funcional:**

20 Se realiza la cuantificación de la actividad de los compuestos según la invención con la ayuda de una línea celular recombinante. Las células derivan originalmente de una línea celular de carcinoma pulmonar humano (A549; ATCC: American Type Culture Collection, Manassas, VA 2018, EE.UU.). La línea celular de ensayo se transfecta establemente con un vector que contiene el gen informador de luciferasa de *Photinus pyralis* (citada en adelante como luciferasa) bajo el control de un promotor mínimo artificial. El promotor mínimo está compuesto por dos elementos responsables de la hipoxia cadena arriba de una caja TATA [Oehme F., Ellinghaus P., Kolkhof P., Smith T.J., Ramakrishnan S., Hütter J., Schramm M., Flamme I., Biochem. Biophys. Res. Commun. 296(2), 343-349 (2002)]. Bajo la influencia de la hipoxia (por ejemplo, cultivando en presencia de 1 % de oxígeno durante 24 horas), o bajo la influencia de inhibidores de dioxigenasa no selectivos (por ejemplo, desferroxamina a una concentración de

100 µM, cloruro de cobalto a una concentración de 100 µM o éter dietílico de *N*-oxalilglicina a una concentración de 1 mM), la línea celular de ensayo produce luciferasa, que puede detectarse y cuantificarse con la ayuda de reactivos de bioluminiscencia adecuados (por ejemplo, sistema de ensayo de luciferasa Steady-Glo®, Promega Corporation, Madison, WI 53711, EE.UU.) y un luminómetro adecuado.

5 **Desarrollo del ensayo:** Se siembran las células el día antes del ensayo en una cantidad medida exactamente de medio de cultivo (DMEM, FCS al 10 %, glutamina 2 mM) en placas de microvaloración de 384 o 1536 pocillos y se mantienen en un incubador celular (96 % de humedad ambiental, 5 % v/v de CO₂, 37 °C). El día del ensayo, se añaden al medio de cultivo las sustancias de ensayo a concentraciones graduadas. No se añade sustancia de ensayo a las preparaciones que sirven como control negativo de las células. Se añade como control positivo para la
10 determinación de la sensibilidad de las células por los inhibidores, por ejemplo, desferroxamina a una concentración final de 100 µM. Se mide la señal luminosa resultante en el luminómetro 6 a 24 horas después de la transferencia de las sustancias de ensayo a los pocillos de las placas de microvaloración. Mediante los valores de medida, se establece una relación de respuesta a la dosis, que sirve como base para el establecimiento de la concentración activa semimáxima (designada como valor de CE₅₀).

15 **1.c) Ensayo *in vitro* celular funcional de la alteración de la expresión génica:**

Para analizar la alteración de la expresión de ARNm específicos en líneas celulares humanas después del tratamiento con sustancias de ensayo, se cultivan las siguientes líneas celulares en placas de 6 o 24 pocillos: células de hepatoma humanas (HUH, JCRB CellBank, Japón), fibroblastos renales embrionarios humanos (HEK/293, ATCC, Manassas, VA 20108, EE.UU.), células de carcinoma de cuello del útero humanas (HeLa, ATCC, Manassas, VA 20108, EE.UU.), células endoteliales venosas del cordón umbilical (HUVEC, Cambrex, East Rutherford, Nueva Jersey 07073, EE.UU.). 24 horas después de la adición de las sustancias de ensayo, se lavan las células con solución salina tamponada con fosfato y se obtiene de ellas el ARN total usando un procedimiento adecuado (por ejemplo, reactivo Trizol®, Invitrogen GmbH, 76131 Karlsruhe, Alemania).

Para un experimento analítico típico, se digiere 1 µg del ARN total así obtenido con ADNasa I y se traduce usando una reacción de transcriptasa inversa adecuada (sistema de transcripción inversa ImProm-II, Promega Corporation, Madison, WI 53711, EE.UU.) a un ADN complementario (ADNc). Se usa un 2,5 % de la preparación de ADNc así obtenida respectivamente para la reacción en cadena de la polimerasa. Se analiza el nivel de expresión de ARNm del gen a analizar mediante la reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa a tiempo real [PCR TaqMan; Heid C.A., Stevens J., Livak K.J., Williams P.M., Genome Res. 6(10), 986-994 (1996)] usando un instrumento de
25 detección de secuencia ABI Prism 7700 (compañía Applied Biosystems Inc.). Se generan las combinaciones de cebador-sonda empleadas a este respecto mediante el software Primer Express 1.5 (compañía Applied Biosystems, Inc.). En particular, se analizan los ARNm de eritropoyetina, carboanhidrasa IX, lactatodeshidrogenasa A y factor de crecimiento de células endoteliales vasculares.

Las sustancias según la presente invención conducen a un aumento significativo dependiente de la dosis del ARNm de los genes inductores de hipoxia en células de origen humano.

30 **2. Ensayos *in vivo* para la detección del efecto en el sistema cardiovascular**

35 **2.a) Ensayo *in vivo* de la alteración de la expresión génica:**

Se administran a ratones o ratas los compuestos de ensayo disueltos en disolventes adecuados por vía oral mediante administración de sondas esofágicas, por vía intraperitoneal o intravenosa. Son dosificaciones típicas 0,1, 0,5, 1, 5, 10, 20, 50, 100 y 300 mg de sustancia por kg de peso corporal y administración. Los animales de control reciben solo disolvente. 4, 8 o 24 horas después de la toma de la sustancia de ensayo, se sacrifican los animales con una sobredosis de isoflurano y posterior dislocación cervical y se extraen los órganos que se van a analizar. Se congelan rápidamente partes de los órganos en nitrógeno líquido. Se obtiene de las partes de los órganos el ARN total como se describe en B.1.a) y se traduce este en un ADNc. Se analiza el nivel de expresión del ARNm del gen que se va a analizar mediante la reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa a tiempo real [PCR-TaqMan; Heid C.A.; Stevens J., Livak K.J., Williams P.M., Genome Res. 6(10), 986-994 (1996)] usando un instrumento de
45 detección de secuencia ABI Prism 7700 (compañía Applied Biosystems, Inc.).

Las sustancias según la presente invención conducen en comparación con los controles de placebo después de administración por vía oral o parenteral a un aumento significativo dependiente de la dosis del ARNm de eritropoyetina en los riñones.

50 **2.b) Determinación del nivel de eritropoyetina en suero:**

Se administran a ratones o ratas la sustancia de ensayo en un disolvente adecuado por vía intraperitoneal u oral una vez o dos veces al día. Son dosificaciones típicas 0,1, 0,5, 1, 5, 10, 20, 50, 100 y 300 mg de sustancia por kg de peso corporal y administración. Los animales de control de placebo reciben solo disolvente. Antes de la administración y cuatro horas después de la última toma de sustancia, se extraen 50 µl de sangre del plexo venoso retroorbital o de la vena de la cola de los animales con anestesia corta. Se hace la sangre no coagulable mediante la adición de litio-heparina. Mediante centrifugación, se obtiene el plasma sanguíneo. Se determina en el plasma el

contenido de eritropoyetina con la ayuda de una ELISA de eritropoyetina (inmunoensayo de epo de ratón Quantikine®, R&D Systems, Inc., Minneapolis, EE.UU.) correspondientemente al manual del fabricante. Se calculan los valores de medida mediante una medida de referencia elevada para eritropoyetina de ratón en pg/ml.

5 Las sustancias según la presente invención conducen después de administración por vía oral y parenteral a un aumento significativo dependiente de la dosis de la eritropoyetina plasmática frente al valor de partida y los controles de placebo.

2.c) Determinación de la composición celular de la sangre periférica:

10 Se administra a ratones o ratas la sustancia de ensayo en un disolvente adecuado por vía intraperitoneal u oral una o dos veces al día durante varios días. Son dosificaciones típicas, por ejemplo, 0,1, 0,5, 1, 5, 10, 20, 50, 100 y 300 mg de sustancia por kg de peso corporal y administración. Los animales de control reciben solo disolvente. Al final del ensayo, se extrae sangre de los animales del plexo venoso del rabillo del ojo o de la vena de la cola con anestesia corta, y se hace no coagulable mediante la adición de citrato de sodio. Se determinan con un dispositivo de medida electrónico adecuado en las muestras de sangre las concentraciones de eritrocitos, leucocitos y trombocitos. Se determina la concentración de reticulocitos mediante frotis de sangre que se colorean con una solución de coloración adecuada para ello (compañía KABE Labortechnik, Nümbrecht) mediante muestreo microscópico de 1000 eritrocitos. Para la determinación del hematocrito, se extrae sangre del plexo venoso retroorbital mediante un capilar de hematocrito y se lee el valor de hematocrito después de centrifugar el capilar en una centrífuga adecuada para ello.

20 Las sustancias según la presente invención conducen después de administración por vía oral y parenteral a un aumento significativo dependiente de la dosis del hematocrito, del recuento de eritrocitos y de reticulocitos frente al valor de partida y los controles de placebo.

3. Determinación de la solubilidad

Preparación de la solución de partida (solución original):

25 Se pesan exactamente al menos 1,5 mg de la sustancia de ensayo en un vial en V con rosca Wide Mouth de 10 mm (compañía Glastechnik Gräfenroda GmbH, n° de art. 8004-WM-H/V15µ) con tapón a rosca y septum convenientes, se añade DMSO hasta una concentración de 50 mg/ml y se agita durante 30 minutos mediante un vórtex.

Preparación de las soluciones de calibración:

Se realizan los pasos de pipeteado necesarios en placas de 96 pocillos profundos (DWP) de 1,2 ml mediante un robot de manejo de líquidos. Se usa como disolvente una mezcla de acetonitrilo/agua 8:2.

30 *Preparación de la solución de partida para las soluciones de calibrado (solución madre):* Se mezclan 10 µl de la solución original con 833 µl de la mezcla de disolventes (concentración= 600 µg/ml) y se homogeneiza. Se preparan de cada sustancia de ensayo diluciones 1:100 en DWP separadas y se homogeneizan de nuevo.

Solución de calibración 5 (600 ng/ml): Se mezclan 30 µl de solución madre con 270 µl de mezcla de disolventes y se homogeneiza.

35 *Solución de calibración 4 (60 ng/ml):* Se mezclan 30 µl de solución de calibración 5 con 270 µl de mezcla de disolventes y se homogeneiza.

Solución de calibración 3 (12 ng/ml): Se mezclan 100 µl de solución de calibración 4 con 400 µl de mezcla de disolventes y se homogeneizan.

40 *Solución de calibración 2 (1,2 ng/ml):* Se mezclan 30 µl de solución de calibración 3 con 270 µl de mezcla de disolventes y se homogeneizan.

Solución de calibración 1 (0,6 ng/ml): Se mezclan 150 µl de solución de calibración 2 con 150 µl de mezcla de disolventes y se homogeneizan.

Preparación de soluciones de muestra:

45 Se realizan las etapas de pipeteado necesarias en DWP de 96 pocillos de 1,2 ml mediante un robot de manejo de líquidos. Se mezclan 10,1 µl de la solución madre con 1000 µl de tampón PBS a pH 6,5. (Tampón PBS a pH 6,5: se pesan 61,86 g de cloruro de sodio, 39,54 g de hidrogenofosfato de sodio y 83,85 g de lejía de sosa 1 N en un matraz graduado de 1 l, se rellena con agua y se agita durante aprox. 1 hora. Se añaden 500 ml de esta solución en un matraz graduado de 5 l y se rellena con agua. Se ajusta a pH 6,5 con lejía de sosa 1 N).

Realización:

50 Se realizan las etapas de pipeteado necesarias en DWP de 96 pocillos de 1,2 ml mediante un robot de manejo de

líquidos. Se agitan las soluciones de muestra así preparadas durante 24 horas a 1400 rpm mediante un agitador de temperatura controlable a 20 °C. Se toman de estas soluciones respectivamente 180 µl y se transfieren a tubos de centrifuga Beckman Polyallomer. Se centrifugan estas soluciones durante 1 hora a aprox. 223.000 x g. Se toman de cada solución de muestra 100 µl del sobrenadante y se diluyen 1:10 y 1:1000 con tampón PBS 6,5.

5 **Analítica:**

Se analizan las muestras mediante HPLC/EM-EM. Se cuantifica mediante una curva de calibración de cinco puntos el compuesto de ensayo. Se expresa la solubilidad en mg/l. Secuencia de análisis: 1) blanco (mezcla de disolventes); 2) solución de calibración 0,6 ng/ml; 3) solución de calibración 1,2 ng/ml; 4) solución de calibración 12 ng/ml; 5) solución de calibración 60 ng/ml; 6) solución de calibración 600 ng/ml; 7) blanco (mezcla de disolventes); 8) solución de muestra 1:1000; 9) solución de muestra 1:10.

10 **Procedimiento HPLC/EM-EM**

HPLC: Agilent 1100, bomba cuaternaria (G1311A), automuestreador CTC HTS PAL, desgasificador (G1322A) y termostato de columna (G1316A); columna: Oasis HLB de 20 mm x 2,1 mm, 25 µm; temperatura: 40 °C; eluyente A: agua + 0,5 ml de ácido fórmico/l; eluyente B: acetonitrilo + 0,5 ml de ácido fórmico/l; caudal: 2,5 ml/min; tiempo de detención; 1,5 min; gradiente: 0 min a 95 % de A, 5 % de B; pendiente: 0-0,5 min a 5 % de A, 95 % de B; 0,5-0,84 min a 5 % de A, 95 % de B; pendiente: 0,84-0,85 min a 95 % de A, 5 % de B; 0,85-1,5 min a 95 % de A, 5 % de B.

EM/EM: EM/EM Waters Quattro Micro Tandem; Z-Spray API-Interface; divisor de entrada HPLC-EM 1:20; medida en modo ESI.

C. Ejemplos de realización para composiciones farmacéuticas

20 Los compuestos según la invención pueden transformarse del siguiente modo en preparados farmacéuticos:

Comprimidos:

Composición:

100 mg del compuesto según la invención, 50 mg de lactosa (monohidratada), 50 mg de almidón de maíz (nativo), 10 mg de polivinilpirrolidona (PVP 25) (compañía BASF, Ludwigshafen, Alemania) y 2 mg de estearato de magnesio.

25 Peso de comprimido 212 mg, diámetro 8 mm, radio de curvatura: 12 mm.

Preparación:

Se granula la mezcla de compuesto según la invención, lactosa y almidón con una solución de PVP al 5 % (v/v) en agua. Después de secar, se mezcla el granulado con estearato de magnesio durante 5 minutos. Se comprime esta mezcla con una prensa de comprimidos habitual (véase anteriormente el formato de los comprimidos). Como valor de referencia para la compresión, se usa una fuerza de compresión de 15 kN.

Suspensión administrable por vía oral:

Composición:

1000 mg del compuesto según la invención, 1000 mg de etanol (al 96 %), 400 mg de Rhodigel® (goma xantana de la compañía FMC, Pensilvania, EE.UU.) y 99 g de agua.

35 Una dosis individual de 100 mg del compuesto según la invención corresponde a 10 ml de suspensión oral.

Preparación:

Se suspende el Rhodigel en etanol y se añade el compuesto según la invención a la suspensión. Se realiza la adición del agua con agitación. Se agita hasta la terminación del hinchamiento del Rhodigel aprox. en 6 h.

Solución administrable por vía oral:

Composición:

500 mg de compuesto según la invención, 2,5 g de polisorbato y 97 g de polietilenglicol 400. Una dosis individual de 100 mg del compuesto según la invención corresponde a 20 g de solución oral.

Preparación:

45 Se suspende el compuesto según la invención en la mezcla de polietilenglicol y polisorbato con agitación. Se continúa el proceso de agitación hasta la disolución completa del compuesto según la invención.

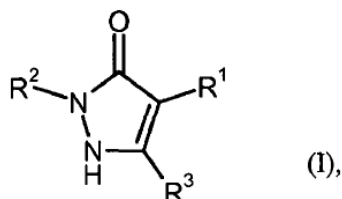
Solución i.v.:

Se disuelve el compuesto según la invención a una concentración inferior a la solubilidad de saturación en un disolvente fisiológicamente compatible (por ejemplo, solución salina isotónica, solución de glucosa al 5 % y/o solución de PEG 400 al 30 %). Se esteriliza por filtración la solución y se rellena en recipientes de inyección estériles y exentos de pirógenos.

5

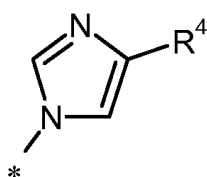
REIVINDICACIONES

1. Compuesto de fórmula (I)



5 en la que

R¹ representa un grupo heteroarilo de fórmula



en las que

10

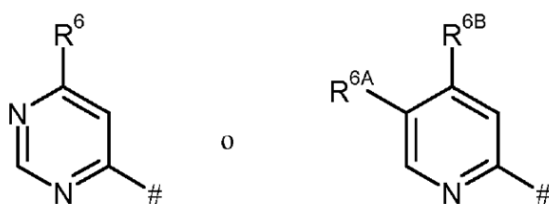
* significa los puntos de unión con el anillo de dihidropirazolona,

y

R⁴ significa hidrógeno, flúor, cloro, bromo, ciano, alquilo (C₁-C₄), trifluorometilo, hidroximetilo, alcoxi (C₁-C₄), trifluorometoxi, hidroxicarbonilo o alcoxi (C₁-C₄)-carbonilo,

15

R² representa un grupo heteroarilo de fórmula



en la que

20

significa los puntos de unión con el anillo de dihidropirazolona,

y

R⁶, R^{6A} y R^{6B} son iguales o distintos y significan independientemente uno de otro hidrógeno o un sustituyente seleccionado del grupo de flúor, cloro, bromo, ciano, alquilo (C₁-C₆), trifluorometilo, hidroxilo, alcoxi (C₁-C₆), trifluorometoxi, amino, mono-alquil (C₁-C₄)-amino, dialquil (C₁-C₄)-amino, hidroxicarbonilo, alcoxi (C₁-C₄)-carbonilo y heterocicloalquilo de 4 a 6 miembros, en donde por su parte alquilo (C₁-C₆) puede estar sustituido con hidroxilo, alcoxi (C₁-C₄) o amino,

25

y

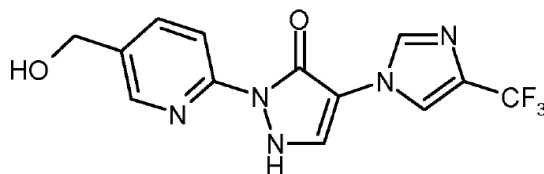
heterocicloalquilo de 4 a 6 miembros por su parte puede estar sustituido una o dos veces, iguales o distintas, con flúor, ciano, alquilo (C₁-C₄), trifluorometilo, hidroxil, alcoxi (C₁-C₄), oxo, amino, mono-alquil (C₁-C₄)-amino, di-alquil (C₁-C₄)-amino, hidroxicarbonilo y/o alcoxi (C₁-C₄)-carbonilo,

y

5 R³ representa hidrógeno,

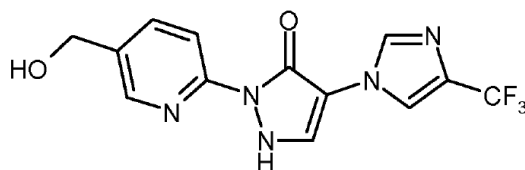
así como sus sales, solvatos y solvatos de las sales.

2. 2-[5-(Hidroximetil)piridin-2-il]-4-[4-(trifluorometil)-1H-imidazol-1-il]-1,2-dihidro-3H-pirazol-3-ona según la reivindicación 1 con la siguiente fórmula

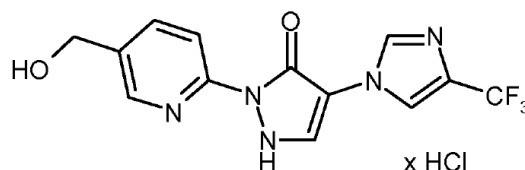


así como sus sales, sus solvatos y los solvatos de sus sales.

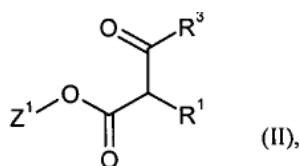
15 3. 2-[5-(Hidroximetil)piridin-2-il]-4-[4-(trifluorometil)-1H-imidazol-1-il]-1,2-dihidro-3H-pirazol-3-ona según la reivindicación 1 con la siguiente fórmula



4. Clorhidrato de 2-[5-(hidroximetil)piridin-2-il]-4-[4-(trifluorometil)-1H-imidazol-1-il]-1,2-dihidro-3H-pirazol-3-ona según la reivindicación 1 con la siguiente fórmula



5. Procedimiento para la preparación de un compuesto de fórmula (I), como se define en las reivindicaciones 1 a 4, **caracterizado porque** se hace reaccionar un compuesto de fórmula (II)

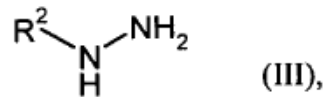


en la que R¹ y R³ presentan los significados dados en las reivindicaciones 1 a 4 y

Z¹ representa metilo o etilo,

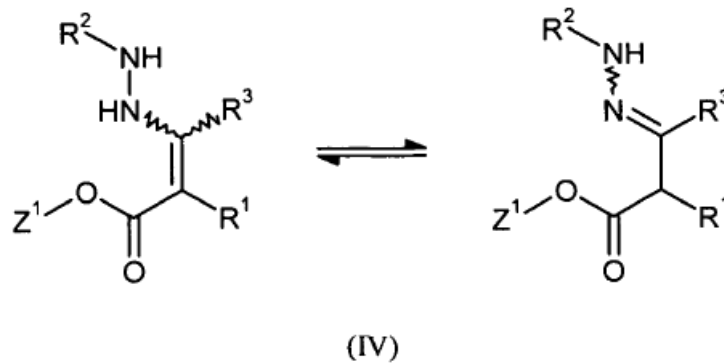
en un disolvente inerte, dado el caso en presencia de un ácido, con un compuesto de fórmula (III)

5



en la que R² presenta el significado dado en las reivindicaciones 1 a 4,

10 para dar compuestos de fórmula (IV)



en la que Z¹, R¹, R² y R³ presentan los significados anteriormente dados,

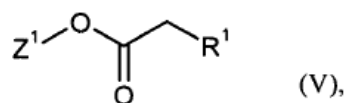
15

que ya en estas condiciones de reacción o en una etapa de reacción posterior se ciclan bajo la influencia de una base para dar los compuestos de fórmula (I),

20 y los compuestos de fórmula (I) se transforman dado el caso con los correspondientes (i) disolventes y/o (ii) bases o ácidos en sus solvatos, sales y/o solvatos de las sales.

6. Procedimiento para la preparación de un compuesto de fórmula (I) como se define en las reivindicaciones 1 a 4, en el que R³ significa hidrógeno, **caracterizado porque** se condensa en primer lugar un compuesto de fórmula (V)

25

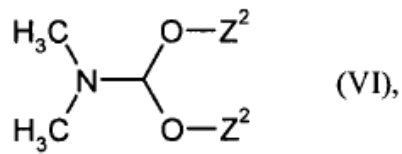


en la que R¹ presenta el significado dado en las reivindicaciones 1 a 4 y

Z¹ representa metilo o etilo,

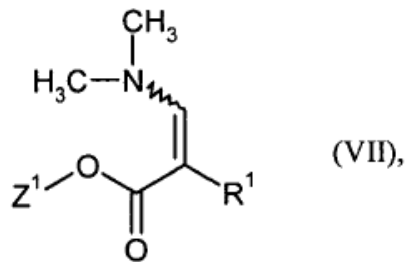
con un compuesto de fórmula (VI)

5



en la que

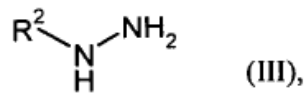
10 Z² representa metilo o etilo, para dar compuestos de fórmula (VII)



en la que Z¹ y R¹ presentan los significados anteriormente dados,

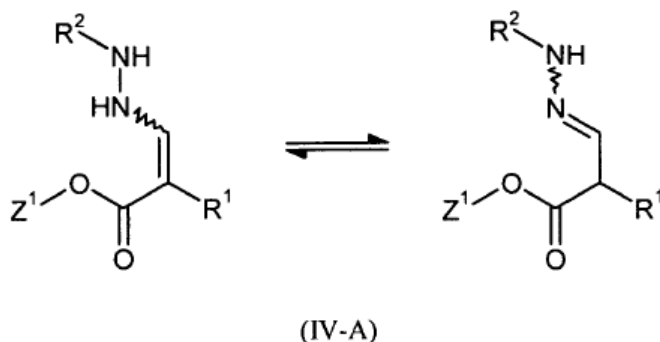
15

y a continuación se hace reaccionar en presencia de un ácido con un compuesto de fórmula (III)



20 en la que R² presenta el significado dado en las reivindicaciones 1 a 4,

para dar compuestos de fórmula (IV-A)



en la que Z^1 , R^1 y R^2 presentan los significados anteriormente dados,

- 5 que ya en estas condiciones de reacción o en una etapa de reacción posterior se ciclan bajo la influencia de una base para dar los compuestos de fórmula (I) en la que R^3 representa hidrógeno.
7. Compuesto como se define en una de las reivindicaciones 1 a 4, para el tratamiento y/o la prevención de enfermedades.
- 10
8. Uso de un compuesto como se define en una de las reivindicaciones 1 a 4 para la fabricación de un medicamento para el tratamiento y/o la prevención de enfermedades cardiovasculares, insuficiencia cardíaca, anemia, enfermedades renales crónicas e insuficiencia renal.
- 15 9. Medicamento que contiene un compuesto como se define en una de las reivindicaciones 1 a 4, en combinación con un coadyuvante inerte, no tóxico y farmacéuticamente adecuado.
10. Medicamento que contiene un compuesto como se define en una de las reivindicaciones 1 a 4, en combinación con uno o varios de otros principios activos seleccionados del grupo compuesto por inhibidores de ACE, antagonistas del receptor de la angiotensina II, bloqueantes del receptor beta, antagonistas del calcio, inhibidores de PDE, antagonistas de receptores de mineralocorticoides, diuréticos, aspirina, suplementos de hierro, suplementos de vitamina B12 y ácido fólico, estatinas, derivados de digital (digoxina), agentes quimioterapéuticos de tumores y antibióticos.
- 20
- 25 11. Medicamento según las reivindicaciones 9 o 10 para el tratamiento y/o la prevención de enfermedades cardiovasculares, insuficiencia cardíaca, anemia, enfermedades renales crónicas e insuficiencia renal.