

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 734 264**

51 Int. Cl.:

A61K 31/4155 (2006.01)
A61K 31/41 (2006.01)
A61P 13/12 (2006.01)
C07D 405/14 (2006.01)
A61K 31/4439 (2006.01)
A61K 31/506 (2006.01)
C07D 401/04 (2006.01)
C07D 403/04 (2006.01)
C07D 413/14 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **02.08.2013 PCT/KR2013/006985**
 87 Fecha y número de publicación internacional: **06.03.2014 WO14035070**
 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.08.2013 E 13834243 (1)**
 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.05.2019 EP 2889032**

54 Título: **Composición para prevenir o tratar enfermedad renal que comprende derivado de pirazol**

30 Prioridad:

27.08.2012 KR 20120093936

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
05.12.2019

73 Titular/es:

**EWHA UNIVERSITY-INDUSTRY
COLLABORATION FOUNDATION (100.0%)
52 Ewhayeodae-gil, Seodaemun-gu
Seoul 120-750, KR**

72 Inventor/es:

**BAE, YUN SOO;
HA, HUN JOO;
LEE, KEE IN y
SONG, KYUNG HEE**

74 Agente/Representante:

PADIAL MARTÍNEZ, Ana Belén

ES 2 734 264 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

Composición para prevenir o tratar enfermedad renal que comprende derivado de pirazol

5 Campo técnico

La presente invención se refiere a una composición para la prevención o el tratamiento de enfermedad renal como se define en las reivindicaciones.

10 Antecedentes en la técnica

Los pacientes con enfermedad renal crónica (CKD) tienen un riesgo 10 veces mayor de incidencia y mortalidad por enfermedad cardiovascular que un grupo de control de edad, y han aumentado recientemente en progresión geométrica (Schieppati A, Remuzzi G: Chronic renal diseases as a public health problem: epidemiology, social, and economic implications. *Kidney Int Suppl.* 98:S7-S10, 2005(1)).

CKD se caracteriza por transición epitelial a mesenquimal (EMT) y acumulación de proteínas de la matriz extracelular (ECM), y exhibe diversas características patológicas incluyendo engrosamiento de la membrana basal de capilares glomerulares, expansión mesangial glomerular, fibrosis intersticial tubular renal, hipertrofia y nefromegalia glomerular, y proteinuria. El factor de crecimiento transformante $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$), un factor implicado en fibrosis renal, sirve como mediador final en la producción de proteínas de la matriz extracelular en respuesta a diversos estímulos y, de ese modo, se considera un indicador de fibrosis (Qian Y, Feldman E, Pennathur S, Kretzler M, Brosius FC 3rd: From fibrosis to sclerosis: mechanisms of glomerulosclerosis in diabetic nephropathy. *Diabetes.* 57: 1439-45, 2008).

La enfermedad renal diabética (DKD), que es un tipo de CKD, es la causa más común de enfermedad renal en estadio terminal (ESRD) (U.S. Renal Data System, USRDS 2011 Annual Data Report: Atlas of End-Stage Renal Disease in the United States, National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, Bethesda, MD, 2011).

Las modalidades de tratamiento, conocidas hasta la fecha, para restringir el progreso de CKD incluyendo DKD a enfermedad renal en estadio terminal incluyen un control muy riguroso de la presión sanguínea y el uso de bloqueantes del sistema renina-angiotensina (RAS), pero aún existe la necesidad de un agente terapéutico que garantice un efecto nefroprotector perfecto (Zhang MZ, Wang S, Yang S, Yang H, Fan X, Takahashi T, Harris RC: The Role of Blood Pressure and the Renin-Angiotensin System in Development of Diabetic Nephropathy (DN) in eNOS-/- db/db Mice. *Am J Physiol Renal Physiol.* Epub antes de impresión, 2011).

Divulgación**40 Problema técnico**

Para conducir a la presente invención, la investigación exhaustiva e intensiva de los presentes inventores en nefroprotección dio como resultado el descubrimiento de la prevención o el tratamiento de enfermedades renales como se define en las reivindicaciones.

Además, se desvela una composición para la prevención o el tratamiento de enfermedad renal, que comprende un derivado de pirazol. También se desvela un método para prevenir o tratar enfermedad renal por administración del derivado de pirazol de la presente invención, y el uso del derivado de pirazol de la presente invención en la preparación de una formulación farmacéutica para la prevención o el tratamiento de enfermedad renal.

50 Solución técnica

De acuerdo con un aspecto de la misma, la presente invención proporciona una composición para su uso en la prevención o el tratamiento de enfermedad renal como se define en las reivindicaciones, que comprende un compuesto seleccionado entre los siguientes compuestos, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:

1-(piridin-2-il)-3-fenil-4-propil-1H-pirazol-5-ol;
 clorhidrato de 1-(piridin-2-il)-3-fenil-4-propil-1H-pirazol-5-ol (1-(piridin-2-il)-3-fenil-4-propil-1H-pirazol-5-ol·HCl);
 3-(3-metoxifenil)-1-(piridin-2-il)-1H-pirazol-5(4H)-ona;
 3-(4-bromofenil)-1-(piridin-2-il)-1H-pirazol-5-ol;
 acetato de 3-(4-bromofenil)-1-(piridin-2-il)-1H-pirazol-5-ilo;
 3-(3-yodofenil)-1-(piridin-2-il)-1H-pirazol-5-ol;
 3-((naftalen-3-iloxi)metil)-1-(piridin-2-il)-1H-pirazol-5-ol;
 3-(2-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)fenil)-1-(piridin-2-il)-1H-pirazol-5-ol;
 3-(bifenil-4-il)-1-(pirimidin-2-il)-1H-pirazol-5-ol; y
 3-{2-(4-hidroxi-3-metoxifenil)vinil}-4-propil-1-(2-piridinil)pirazol-5-ol.

En una realización a modo de ejemplo de la misma, la presente invención proporciona una composición para su uso en la prevención o el tratamiento de enfermedad renal como se define en las reivindicaciones, que comprende un compuesto seleccionado entre los siguientes compuestos, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:

- 5
1-(piridin-2-il)-3-fenil-4-propil-1H-pirazol-5-ol·HCl;
acetato de 3-(4-bromofenil)-1-(piridin-2-il)-1H-pirazol-5-ilo;
3-(3-yodofenil)-1-(piridin-2-il)-1H-pirazol-5-ol;
10 3-((naftalen-3-iloxi)metil)-1-(piridin-2-il)-1H-pirazol-5-ol; y
3-(bifenil-4-il)-1-(pirimidin-2-il)-1H-pirazol-5-ol.

Como se usa en el presente documento, la expresión "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a una sal usada por lo general en el campo medicinal. Algunos ejemplos de sal farmacéuticamente aceptable incluyen sales de ácido inorgánico preparadas a partir, por ejemplo, de clorhidrato, ácido nítrico, ácido fosfórico, ácido bromico, ácido yódico, ácido perclórico, ácido estánnico, y ácido sulfúrico, sales de ácido orgánico preparadas a partir, por ejemplo, de ácido acético, ácido trifluoroacético, ácido cítrico, ácido maleico, ácido succínico, ácido oxálico, ácido benzoico, ácido tartárico, ácido fumárico, ácido mandélico, ácido propiónico, ácido cítrico, ácido láctico, ácido glicólico, ácido glucónico, ácido galacturónico, ácido glutámico, ácido glutárico, ácido glucurónico, ácido aspártico, ácido ascórbico, ácido carbónico, ácido vanílico, ácido yodhídrico, y sulfonatos preparados a partir, por ejemplo, de ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido p-toluenosulfónico, y ácido naftalenosulfónico. Es preferente el clorhidrato.

En la presente invención, la enfermedad renal se selecciona entre enfermedad renal diabética, nefropatía hipertensiva, glomerulonefritis, pielonefritis, nefritis intersticial, nefritis lúpica, enfermedad renal poliquística o insuficiencia renal.

La enfermedad renal se caracteriza por proteinuria, esclerosis glomerular, o fibrosis intersticial renal.

En la medida de no degradar el efecto de la presente invención, la composición de la presente invención puede comprender además un aditivo farmacéuticamente aceptable tal como un diluyente, un aglutinante, un disgregante, un lubricante, un agente para ajustar el pH, un antioxidante y un solubilizante.

Como diluyente, se pueden usar azúcar, almidón, celulosa microcristalina, lactosa (hidrato de lactosa), glucosa, D-manitol, alginato, sales de metales alcalinotérreos, arcilla, polietilenglicol, hidrogenofosfato de calcio anhidro, o una combinación de los mismos. Como aglutinante, se pueden usar almidón, celulosa microcristalina, sílice altamente dispersable, manitol, D-manitol, sacarosa, hidrato de lactosa, polietilenglicol, polivinilpirrolidona (Povidona), copolímero de polivinilpirrolidona (copovidona), hipromelosa, hidroxipropilcelulosa, goma natural, goma sintética, copovidona, gelatina, o una combinación de los mismos.

Como disgregante, se pueden usar almidón o almidón modificado, tal como almidón glicolato sódico, almidón de maíz, almidón de patata, almidón pregelatinizado; arcilla tal como bentonita, montmorillonita, Veegum; celulosas tales como celulosa microcristalina, hidroxipropilcelulosa, carboximetilcelulosa; ácido algínico o una sal del mismo tal como alginato sódico; celulosas reticuladas tales como croscarmelosa sódica; gomas tales como goma de guar, goma de xantano; polímeros reticulados tales como polivinilpirrolidona reticulada (crospovidona); agentes efervescentes tales como bicarbonato sódico, ácido cítrico, o una combinación de los mismos.

Como lubricante, se pueden usar talco, ácido esteárico, estearato de magnesio, estearato de calcio, laurilsulfato sódico, aceite vegetal hidrogenado, benzoato sódico, estearilfumarato sódico, vehenato de glicerilo, monooleato de glicerilo, monoestearato de glicerilo, palmitoestearato de glicerilo, sílice coloidal, o una combinación de los mismos.

Como agente para ajustar el pH, se pueden usar un acidificante tal como ácido acético, ácido adípico, ácido ascórbico, ascorbato sódico, eterato sódico, ácido málico, ácido succínico, ácido tartárico, ácido fumárico, ácido cítrico, y un alcalinizante tal como carbonato de calcio precipitado, agua amoniacal, meglumina, carbonato sódico, óxido de magnesio, carbonato de magnesio, citrato sódico y fosfato de calcio tribásico.

Como antioxidante, se pueden usar dibutil hidroxitolueno, hidroxianisol butirado, acetato de tocoferol, tocoferol, galato de propilo, hidrogenosulfito sódico, y piro-sulfito sódico. En el compartimento de liberación inmediata de la presente invención, como solubilizante, se pueden usar laurilsulfato sódico, éster de ácido graso de polioxietileno sorbitán (tal como polisorbato), docusato sódico y poloxámero.

Además, con el fin de preparar una formulación de liberación retrasada, la composición de la presente invención puede incluir un polímero entérico, un polímero insoluble en agua, un compuesto hidrófobo, y un polímero hidrófilo.

El polímero entérico se refiere a un polímero que es insoluble o estable en condiciones ácidas de pH menor que 5 y se disuelve o degrada en condiciones específicas de pH de pH 5 o superior. Por ejemplo, el polímero entérico puede ser derivados entéricos de celulosa tales como acetato succinato de hipromelosa, ftalato de hipromelosa (ftalato de

hidroxipropilmetilcelulosa), ftalato de hidroximetilcelulosa, acetato ftalato de celulosa, acetato succinato de celulosa, acetato maleato de celulosa, benzoato ftalato de celulosa, propionato ftalato de celulosa, ftalato de metilcelulosa, carboximetilcelulosa, ftalato de etilhidroxietilcelulosa, y metilhidroxietilcelulosa; copolímeros entéricos de ácido acrílico tales como un copolímero de estireno-ácido acrílico, un copolímero de acrilato de metilo-ácido acrílico, un copolímero de acrilato de metilo-ácido metacrílico (por ejemplo, Acril-EZE), un copolímero de acrilato de butilo-estireno-ácido acrílico, y un copolímero de acrilato de metilo-ácido metacrílico-acrilato de octilo; copolímeros entéricos de polimetacrilato tales como un copolímero de poli(ácido metacrílico/metacrilato de metilo) (por ejemplo, Eudragit L o Eudragit S, fabricados por Evonik, Alemania), y un copolímero de poli(ácido metacrílico/acrilato de etilo) (por ejemplo, Eudragit L100-55); o copolímeros entéricos de ácido maleico tales como un copolímero de acetato de vinilo-anhídrido maleico, un copolímero de estireno-anhídrido maleico, un copolímero de estireno-monoéster maleico, un copolímero de vinil metil éter-anhídrido maleico, un copolímero de etileno-anhídrido maleico, un copolímero de vinil butil éter-anhídrido maleico, un copolímero de acrilonitrilo-acrilato de metilo-anhídrido maleico, y un copolímero de acrilato de butilo-estireno-anhídrido maleico; y derivados entéricos de polivinilo tales como ftalato de alcohol polivinílico, ftalato de polivinilacetato, butirato ftalato de polivinilo, y ftalato de polivinilacetato.

El polímero insoluble en agua se refiere a un polímero insoluble en agua farmacéuticamente aceptable que controla la liberación de un fármaco. Por ejemplo, el polímero insoluble en agua puede ser acetato de polivinilo (por ejemplo, Kollicoat SR30D), un copolímero de polimetacrilato insoluble en agua [por ejemplo, copolímero de poli(acrilato de etilo-metacrilato de metilo) (por ejemplo, Eudragit NE30D), un copolímero de poli(acrilato de etilo-metacrilato de metilo-metacrilato de trimetilaminoetilo) (por ejemplo, Eudragit RSPO)], etilcelulosa, éster de celulosa, éter de celulosa, acilato de celulosa, diacilato de celulosa, triacilato de celulosa, acetato de celulosa, diacetato de celulosa y triacetato de celulosa.

El compuesto hidrófobo se refiere a una sustancia insoluble en agua farmacéuticamente aceptable que controla la liberación de un fármaco. Por ejemplo, el compuesto hidrófobo pueden ser ácidos grasos y ésteres de ácidos grasos tales como palmitoestearato de glicerilo, estearato de glicerilo, behenato de glicerilo, palmitato de cetilo, monooleato de glicerilo y ácido esteárico; alcoholes de ácidos grasos tales como alcohol cetosteárico, alcohol cetílico y alcohol estearílico; ceras tales como cera de carnauba, cera de abeja y cera microcristalina; y sustancias inorgánicas tales como talco, carbonato de calcio precipitado, hidrogenofosfato de calcio, óxido de cinc, óxido de titanio, caolín, bentonita, montmorillonita y Veegum.

El polímero hidrófilo se refiere a un polímero soluble en agua farmacéuticamente aceptable que controla la liberación de un fármaco. Por ejemplo, el polímero hidrófilo pueden ser sacáridos tales como dextrina, povidona, dextrano, pectina y un derivado de pectina, alginato, ácido poligalacturónico, xilano, arabinosilano, arabinogalactano, almidón, hidroxipropilalmidón, amilosa y amilopectina; derivados de celulosa tales como hipromelosa, hidroxipropilcelulosa, hidroximetilcelulosa, hidroxietilcelulosa, metilcelulosa, y carboximetilcelulosa sódica; gomas tales como goma de guar, goma de algarrobo, tragacanto, carragenano, goma de acacia, goma arábiga, goma de gelano y goma de xantano; proteínas tales como gelatina, caseína y zeína; derivados de polivinilo tales como alcohol polivinílico, polivinilpirrolidona y polivinilacetato de dietilaminoacetato; copolímeros hidrófilos de polimetacrilato tales como un copolímero de poli(metacrilato de butilo-metacrilato de (2-dimetilaminoetilo)-metacrilato de metilo) (por ejemplo, Eudragit E100, fabricado por Evonik, Alemania), y un copolímero de poli(acrilato de etilo-metacrilato de metilo-cloruro metacrilato de trietilaminoetilo) (por ejemplo, Eudragit RL y RS, fabricado por Evonik, Alemania); derivados de polietileno tales como polietilenglicol, y óxido de polietileno; y carbómero.

Además, la composición de la presente invención se puede formular con el uso de aditivos farmacéuticamente aceptables tales como diversos aditivos seleccionados entre colorantes y fragancias.

La composición farmacéutica de acuerdo con la presente invención se puede formular en formas de dosificación oral tales como polvos, gránulos, comprimidos, cápsulas, suspensiones, emulsiones, jarabes, y aerosoles, medicinas para uso externo, supositorios o soluciones estériles para inyección, y se pueden usar usando un método convencional.

De acuerdo con otro aspecto de la misma, se desvela un método para prevenir o tratar enfermedad renal, que comprende administrar a un sujeto, incluyendo un mamífero, una composición para la prevención o el tratamiento de enfermedad renal que comprende un compuesto seleccionado entre los siguientes compuestos, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:

1-(piridin-2-il)-3-fenil-4-propil-1H-pirazol-5-ol;
 1-(piridin-2-il)-3-fenil-4-propil-1H-pirazol-5-ol·HCl;
 3-(3-metoxifenil)-1-(piridin-2-il)-1H-pirazol-5(4H)-ona;
 3-(4-bromofenil)-1-(piridin-2-il)-1H-pirazol-5-ol;
 acetato de 3-(4-bromofenil)-1-(piridin-2-il)-1H-pirazol-5-ilo;
 3-(3-yodofenil)-1-(piridin-2-il)-1H-pirazol-5-ol;
 3-((naftalen-3-iloxi)metil)-1-(piridin-2-il)-1H-pirazol-5-ol;
 3-(2-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)fenil)-1-(piridin-2-il)-1H-pirazol-5-ol;

3-(bifenil-4-il)-1-(pirimidin-2-il)-1H-pirazol-5-ol; y
 3-{2-(4-hidroxi-3-metoxifenil)vinil}-4-propil-1-(2-piridinil)pirazol-5-ol.

5 Como se usa en el presente documento, el término "administrar" significa la introducción de la composición para prevenir y tratar enfermedad renal de acuerdo con la presente invención en un paciente mediante un método apropiado. Se puede adoptar cualquier ruta mediante la que se administre la composición, siempre que la composición para prevenir y tratar enfermedad renal de acuerdo con la presente invención alcance el tejido diana. Por ejemplo, la composición se puede administrar por vía oral, intraperitoneal, intravenosa, intramuscular, subcutánea, intradérmica, intranasal, intrapulmonar, rectal, intracavitaria, intraperitoneal, o intratecal.

10 La administración de la composición para prevenir o tratar enfermedades renales de acuerdo con la presente invención se puede llevar a cabo una vez al día, o dos o más veces al día a intervalos regulares de tiempo.

15 El nivel de dosis eficaz del compuesto seleccionado entre los siguientes compuestos, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, puede variar dependiendo de una diversidad de factores que incluyen el peso, edad, género, estado general de salud, y dieta del paciente, el momento de administración, la ruta de administración, y la tasa de excreción, y la gravedad de la enfermedad:

20 1-(piridin-2-il)-3-fenil-4-propil-1H-pirazol-5-ol;
 1-(piridin-2-il)-3-fenil-4-propil-1H-pirazol-5-ol·HCl;
 3-(3-metoxifenil)-1-(piridin-2-il)-1H-pirazol-5(4H)-ona;
 3-(4-bromofenil)-1-(piridin-2-il)-1H-pirazol-5-ol;
 acetato de 3-(4-bromofenil)-1-(piridin-2-il)-1H-pirazol-5-ilo;
 3-(3-yodofenil)-1-(piridin-2-il)-1H-pirazol-5-ol;
 25 3-((naftalen-3-iloxi)metil)-1-(piridin-2-il)-1H-pirazol-5-ol;
 3-(2-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)fenil)-1-(piridin-2-il)-1H-pirazol-5-ol;
 3-(bifenil-4-il)-1-(pirimidin-2-il)-1H-pirazol-5-ol; y
 3-{2-(4-hidroxi-3-metoxifenil)vinil}-4-propil-1-(2-piridinil)pirazol-5-ol.

30 Por ejemplo, las dosificaciones pueden variar de 0,1 a 100 mg/kg/día, pudiendo variar dependiendo de la gravedad de la enfermedad, y la edad y el sexo del paciente.

De acuerdo con un aspecto adicional de la misma, se desvela un método para prevenir o tratar enfermedad renal, que comprende administrar a un sujeto, incluyendo mamífero, una composición para la prevención o el tratamiento de enfermedad renal que comprende un compuesto seleccionado entre los siguientes compuestos, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:

40 1-(piridin-2-il)-3-fenil-4-propil-1H-pirazol-5-ol·HCl;
 acetato de 3-(4-bromofenil)-1-(piridin-2-il)-1H-pirazol-5-ilo;
 3-(3-yodofenil)-1-(piridin-2-il)-1H-pirazol-5-ol;
 3-((naftalen-3-iloxi)metil)-1-(piridin-2-il)-1H-pirazol-5-ol; y
 3-(bifenil-4-il)-1-(pirimidin-2-il)-1H-pirazol-5-ol.

45 De acuerdo con otro aspecto adicional de la misma, la presente invención proporciona el uso de los siguientes compuestos, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la preparación de una formulación farmacéutica para la prevención o el tratamiento de enfermedades renales, como se reivindica:

50 1-(piridin-2-il)-3-fenil-4-propil-1H-pirazol-5-ol;
 1-(piridin-2-il)-3-fenil-4-propil-1H-pirazol-5-ol·HCl;
 3-(3-metoxifenil)-1-(piridin-2-il)-1H-pirazol-5(4H)-ona;
 3-(4-bromofenil)-1-(piridin-2-il)-1H-pirazol-5-ol;
 acetato de 3-(4-bromofenil)-1-(piridin-2-il)-1H-pirazol-5-ilo;
 3-(3-yodofenil)-1-(piridin-2-il)-1H-pirazol-5-ol;
 3-((naftalen-3-iloxi)metil)-1-(piridin-2-il)-1H-pirazol-5-ol;
 55 3-(2-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)fenil)-1-(piridin-2-il)-1H-pirazol-5-ol;
 3-(bifenil-4-il)-1-(pirimidin-2-il)-1H-pirazol-5-ol; y
 3-{2-(4-hidroxi-3-metoxifenil)vinil}-4-propil-1-(2-piridinil)pirazol-5-ol.

60 En una realización a modo de ejemplo de la misma, la presente invención proporciona el uso de los siguientes compuestos, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la preparación de una formulación farmacéutica para la prevención o el tratamiento de enfermedades renales, como se reivindica:

65 1-(piridin-2-il)-3-fenil-4-propil-1H-pirazol-5-ol·HCl);
 acetato de 3-(4-bromofenil)-1-(piridin-2-il)-1H-pirazol-5-ilo;
 3-(3-yodofenil)-1-(piridin-2-il)-1H-pirazol-5-ol;
 3-((naftalen-3-iloxi)metil)-1-(piridin-2-il)-1H-pirazol-5-ol; y

3-(bifenil-4-il)-1-(pirimidin-2-il)-1H-pirazol-5-ol.

Efectos ventajosos

- 5 Al tener efectos supresores de proteinuria, hipertrofia glomerular, y fibrosis renal, los compuestos de la presente invención, o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, se pueden usar en la prevención o el tratamiento de enfermedad renal, como se define en las reivindicaciones.

Descripción de los dibujos

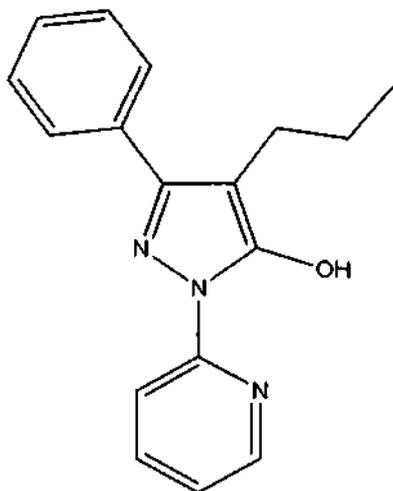
- 10 La Figura 1 muestra el efecto del compuesto del Ejemplo 1 en hipertrofia glomerular y expansión mesangial glomerular.
 La Figura 2 muestra el efecto del compuesto del Ejemplo 1 en la acumulación de colágeno (tinción tricrómica de Masson, tinción con rojo picosirius), y la producción de marcador de macrófagos (F4/80).
 15 La Figura 3 muestra el efecto del compuesto del Ejemplo 1 en la expresión de factor de crecimiento transformante $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$), proteínas de la matriz extracelular (fibronectina, colágeno IV, y colágeno $\text{I}\alpha 1$), y factor inflamatorio (F4/80).
 Las Figuras 4 a 13 muestran los efectos inhibidores de los compuestos de los Ejemplos 1 a 9 y el Ejemplo Comparativo 1 en la expresión de colágeno $\text{I}\alpha 1$ en células tubulares proximales.

Mejor modo

- Se puede obtener una mejor comprensión de la presente invención a través de los siguientes ejemplos que se exponen para ilustrar la presente invención. A menos que se indique específicamente de otro modo, los reactivos y disolventes mencionados posteriormente se adquirieron en Sigma-Aldrich Korea, Alfa Aesar, o Tokyo Chemical Industry (TCI). Los datos se obtuvieron usando el espectrómetro Eclipse FT 300 MHz, JEOL para RMN ^1H Y RMN ^{13}C , y el espectrómetro de masas MStation JMS 700 para Masas

EJEMPLO 1: Síntesis de 1-(Piridin-2-il)-3-fenil-4-propil-1H-pirazol-5-ol·HCl (denominado en lo sucesivo Compuesto 18-278)

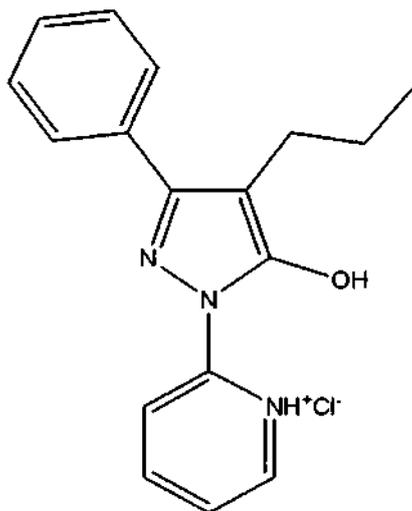
Etapa 1: Síntesis de 1-(piridin-2-il)-3-fenil-4-propil-1H-pirazol-5-ol[1-(piridin-2-il)-3-fenil-4-propil-1H-pirazol-5-ol]



... [Fórmula Química 1]

- 35 Se pusieron éster de etilo del ácido 2-propil-3-oxo-3-fenilpropiónico (2,52 g, 10,7 mmol) y etanol (10 ml) en un matraz de fondo redondo, y se añadió lentamente gota a gota 2-hidrazinopiridina (1,29 g, 11,8 mmol) diluida con etanol (10 ml) a 0 °C. La solución resultante se calentó a reflujo a 100 °C durante 3 días. El disolvente se retiró por destilación a presión reducida, y el sólido resultante se lavó con hexano y acetato de etilo y se secó al vacío para dar el compuesto de Fórmula Química 1 con un 82 % de rendimiento.
 40 RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 12,50 (1H, s), 8,27-8,25 (1H, m), 8,01 (1H, d, J = 8,5 Hz), 7,81 (1H, m), 7,69 (2H, m), 7,48-7,34 (3H, m), 7,14-7,10 (1H, m), 2,54 (2H, d, J = 7,5 Hz), 1,64 (2H, m), 0,93 (3H, t, J = 7,3 Hz);
 EIMS (70 eV) m/z (intensidad rel.) 279 (M $^+$, 37), 250 (100).

- 45 Etapa 2: Síntesis de 1-(piridin-2-il)-3-fenil-4-propil-1H-pirazol-5-ol·HCl (278)

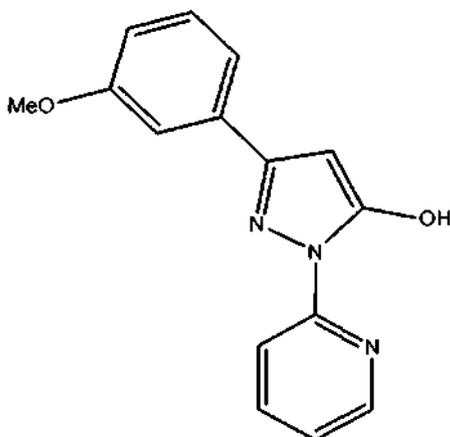


... [Fórmula Química 2]

5 Se disolvió el 1-(piridin-2-il)-3-fenil-4-propil-1H-pirazol-5-ol (280 mg) preparado en la etapa 1 en etil éter (4 ml) en un matraz de fondo redondo, y se añadió lentamente gota a gota etil éter (0,55 ml), en el que se había disuelto HCl 2 M, a 0 °C. El disolvente se retiró por filtración al vacío, y el sólido resultante se lavó con hexano y acetato de etilo y se secó al vacío para dar 270 mg del compuesto de Fórmula Química 2.

RMN ¹H (300 MHz, DMSO-d₆) δ 8,44 (1H, d, J = 4,2 Hz), 8,08-8,03 (2H, m), 7,66-7,64 (2H, m), 7,48-7,42 (3H, m), 7,34-7,30 (1H, m), 2,49 (2H, s a), 2,43 (2H, t, J = 7,5 Hz), 1,48 (2H, m), 0,48 (3H, t, J = 7,3 Hz).

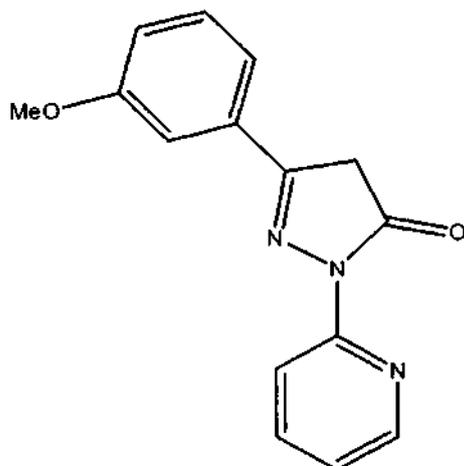
10 EJEMPLO 2: Síntesis de 3-(3-metoxifenil)-1-(piridin-2-il)-1H-pirazol-5-ol (18-001)



... [Fórmula Química 3]

15 El compuesto de Fórmula Química 3 se sintetizó como se desvela en el documento de Patente Coreana N.º 10-0942382. En resumen, se añadieron lentamente gotas de 2-hidrazinopiridina (1,1 equivalentes) en 3 ml de etanol a éster de etilo del ácido 3-(3-metoxifenil)-3-oxo-propiónico (1 equivalente) y 4 ml de etanol a 0 °C en un matraz de fondo redondo. La solución se calentó a reflujo durante 20 minutos. Después de la retirada del disolvente por destilación a presión reducida, el sólido obtenido de ese modo se lavó con hexano y acetato de etilo, y se secó al vacío para proporcionar el compuesto de Fórmula Química 3: Rendimiento 67 %.

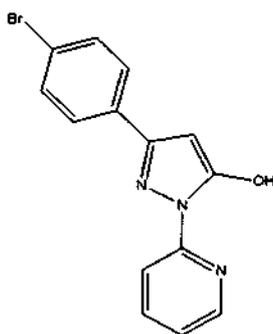
20



... [Fórmula Química 3']

5 El compuesto de Fórmula Química 3 es una forma enólica a mientras que el compuesto de Fórmula Química 3' tiene una forma ceto. Los compuestos se encuentran en tautomería ceto-enol de modo que pueden interconvertirse entre sí.

EJEMPLO 3: Síntesis de 3-(4-bromofenil)-1-(piridin-2-il)-1H-pirazol-5-ol (denominado en lo sucesivo Compuesto 18-066)



... [Fórmula Química 4]

10

El compuesto se sintetizó como se desvela en el documento de Publicación de Solicitud de Patente Coreana N.º 10-2011-0025149. En resumen, se añadió una solución de 2-hidrazinopiridina (10 mmol, fabricada por Aldrich) en etanol (10 ml) a 4-bromobenzoilacetato de etilo (10 mmol, fabricado por Aldrich) y etanol (10 ml) en un matraz de fondo redondo de 100 ml. Después de agitar a 100 °C durante 8 h, la solución se enfrió a temperatura ambiente. El sólido formado de ese modo se filtró, se lavó con etanol y hexano, y se secó al vacío para proporcionar el compuesto de Fórmula Química 4.

Rendimiento: 81 % (2,5 g, 8,0 mmol);

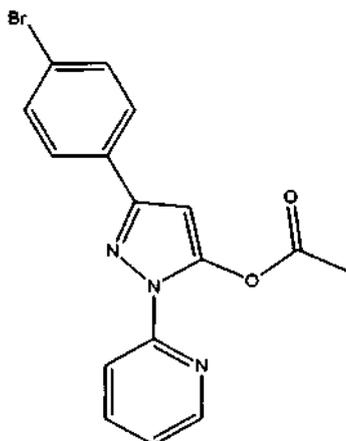
RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 12,8 (a, 1H) 8,30-8,28 (m, 1H), 8,03 (d, 1H, J = 8,5 Hz), 7,94-7,88 (m, 1H), 7,73 (d, 2H, J = 8,6 Hz), 7,54 (d, 2H, J = 8,6 Hz), 7,21-7,16 (m, 1H), 5,91 (s, 1H);

EIMS (70 eV) m/z (intensidad rel.) 315 (M⁺, 25), 317 (M⁺, 26), 101 (19), 79 (100).

20

EJEMPLO 4: Síntesis de acetato de 3-(4-bromofenil)-1-(piridin-2-il)-1H-pirazol-5-ilo (denominado en lo sucesivo Compuesto 18-067)

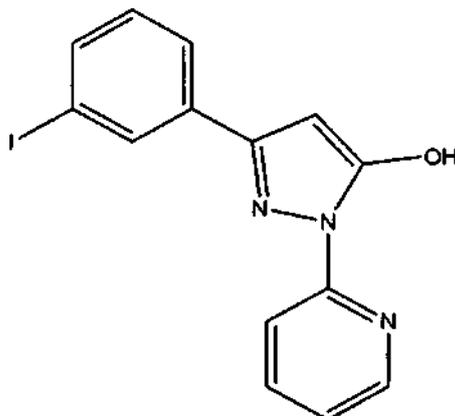
25



... [Fórmula Química 5]

A una solución de 3-(4-bromofenil)-1-(piridin-2-il)-1H-pirazol-5-ol (3 mmol, 1 equivalente), sintetizado en el Ejemplo 3, en 10 ml de CHCl_3 se añadieron 1,2 equivalentes de trietilamina a 0 °C. A continuación, se añadió 1 equivalente de cloruro de acetilo antes de calentar a reflujo durante 10 min. Después de la compleción de la reacción, la solución se mezcló con H_2O (10 ml) y se extrajo con CHCl_3 . La fase orgánica formada de ese modo se secó sobre MgSO_4 anhidro, se filtró, se concentró, y se purificó por cromatografía en columna (n-Hexano:EA = 5:1(v/v)) para proporcionar el compuesto de Fórmula Química 5.

10 **EJEMPLO 5: Síntesis de 3-(3-yodofenil)-1-(piridin-2-il)-1H-pirazol-5-ol (denominado en lo sucesivo Compuesto 18-082)**



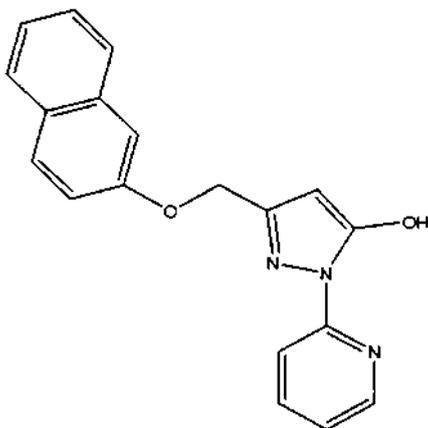
... [Fórmula Química 6]

15 El compuesto se sintetizó como se desvela en el documento de Publicación de Solicitud de Patente Coreana N.º 10-2011-0025149. En resumen, se añadió una solución de 2-hidrazinopiridina (10 mmol, fabricada por Aldrich) en etanol (10 ml) a 3-yodobenzoilacetato de etilo (10 mmol, fabricado por Aldrich) y etanol (10 ml) en un matraz de fondo redondo de 100 ml. Después de agitar a 100 °C durante 8 h, la solución se enfrió a temperatura ambiente. El sólido formado de ese modo se filtró, se lavó con etanol y hexano, y se secó al vacío para proporcionar el compuesto de

20 Fórmula Química 6. Rendimiento: 80,4 %.

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 12,84 (a, 1H) 8,31-8,29 (m, 1H), 8,25-8,24 (m, 1H), 8,08-8,04 (m, 1H), 7,95-7,89 (m, 1H), 7,81-7,77 (m, 1H), 7,70-7,66 (m, 1H), 7,23-7,13 (m, 2H), 5,91 (s, 1H).

25 **EJEMPLO 6: Síntesis de 3-((naftalen-3-iloxi)metil)-1-(piridin-2-il)-1H-pirazol-5-ol (6b) (denominado en lo sucesivo Compuesto 18-095)**



... [Fórmula Química 7]

La síntesis se llevó a cabo de acuerdo con la divulgación del documento de Publicación de Solicitud de Patente Coreana N.º 10-2011-0025151. En resumen, el compuesto se sintetizó de acuerdo con las siguientes etapas 1 y 2.

5

Etapla 1: Síntesis de 4-(naftalen-3-iloxi)-3-oxobutanoato de etilo

10

En un matraz de fondo redondo de 25 ml, se añadió lentamente cloruro de oxalilo (0,338 ml, 4,0 mmol, fabricado por Aldrich) a una solución de ácido 2-naftalenoxiacético (4b, 404,4 mg, 2,0 mmol, fabricado por Fluka) en 28 ml de benceno anhidro, y se sometieron la reacción en presencia de una pequeña cantidad del catalizador DMF a temperatura ambiente durante 2 h con agitación. La mezcla de reacción se concentró, y el concentrado se disolvió en cloruro de metileno.

15

20

Posteriormente, la solución se enfrió a 0 °C, y se añadió lentamente una solución de ácido de Meldrum (323 mg, 2,24 mmol) en 2 ml de cloruro de metileno y a continuación 1 ml de piridina, y se agitaron a temperatura ambiente durante 18 h. Cuando la reacción se completó según monitorización mediante TLC, la reacción se detuvo con 1,5 ml de HCl 2 M y hielo. La mezcla de reacción se lavó con solución salina saturada, se secó sobre sulfato sódico anhidro, y se concentró. Después de que se retirara el disolvente mediante secado al vacío, el residuo se disolvió en 30 ml de etanol, y se calentó a 60 °C a reflujo durante 20 h, con un condensador de refrigeración instalado en el matraz. La mezcla de reacción se concentró para retirar el etanol, y el concentrado se extrajo con acetato de etilo, se lavó con solución salina saturada, se secó sobre sulfato sódico anhidro, se concentró y se purificó por cromatografía en columna (n-Hex/EtOAc = 10/1 (v/v)) para proporcionar 4-(naftalen-3-iloxi)-3-oxobutanoato de etilo. Rendimiento 61 %.

25

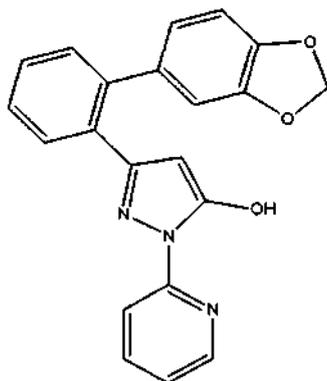
Etapla 2: Síntesis de 3-((naftalen-3-iloxi)metil)-1-(piridin-2-il)-1H-pirazol-5-ol

30

35

En un matraz de fondo redondo de 25 ml, se añadió lentamente una solución de 2-hidrazinopiridina (0,55 g, 5,0 mmol) en 5 ml de etanol a una solución de 4-(naftalen-3-iloxi)-3-oxobutanoato de etilo (5a, 1,2 g, 5,4 mmol) en 10 ml de etanol a 100 °C durante 30 min, seguido de agitación durante 20 h. Cuando la reacción se completó según monitorización mediante TLC, la mezcla de reacción se concentró por evaporación, se extrajo con acetato de etilo, se lavó con solución salina saturada, se secó sobre sulfato sódico anhidro, se concentró y se purificó por cromatografía en columna (n-Hex/EtOAc = 9/1(v/v)) para proporcionar el compuesto de Fórmula Química 7. Rendimiento 65,2 %; RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 12,76 (a, 1H) 8,29-8,27 (m, 1H), 7,97-7,87 (m, 2H), 7,79-7,74 (m, 3H), 7,49-7,41 (m, 1H), 7,37-7,15 (m, 4H), 5,76 (s, 1H), 5,15 (s, 2H); EIMS m/z (intensidad rel.) 317 (M⁺, 100), 174 (99), 106 (7).

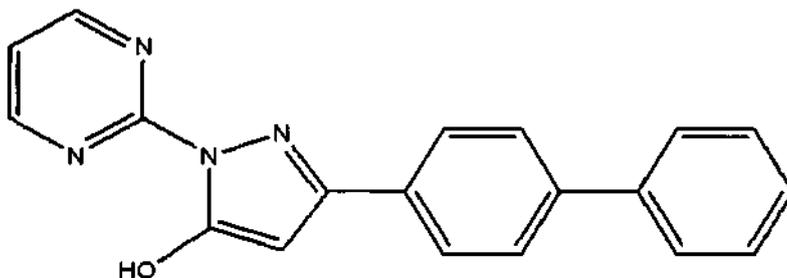
EJEMPLO 7: Síntesis de 3-(2-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)fenil)-1-(piridin-2-il)-1H-pirazol-5-ol (denominado en lo sucesivo Compuesto 18-177)



... [Fórmula Química 8]

El compuesto de Fórmula Química 8 se sintetizó como se desvela en el documento de Publicación de Solicitud de Patente Coreana N.º 10-2011-0025149.

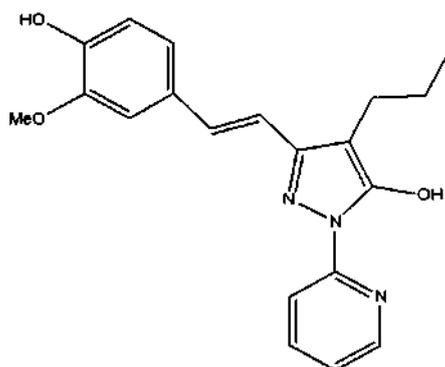
5 **EJEMPLO 8: Síntesis de 3-(bifenil-4-il)-1-(pirimidin-2-il)-1H-pirazol-5-ol (denominado en lo sucesivo Compuesto 18-186)**



... [Fórmula Química 9]

10 El compuesto de Fórmula Química 9 se sintetizó como se desvela en el documento de Publicación de Solicitud de Patente Coreana N.º 10-2011-0025149.

15 **EJEMPLO 9: Síntesis de 3-{2-(4-hidroxi-3-metoxifenil)vinil}-4-propil-1-(2-piridinil)pirazol-5-ol (denominado en lo sucesivo 18-273)**



... [Fórmula Química 10]

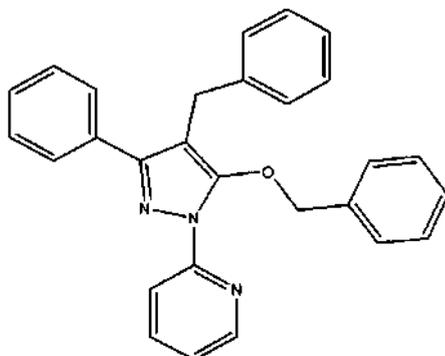
20 A una solución de (E)-5-[4-(terc-butildimetilsililoxi)-3-metoxifenil]-3-oxo-2-propilpentanoato de etilo (1,02 g, 2,42 mmol) en ácido acético (5 ml) se añadió 2-hidrazinopiridina (266 mg, 2,44 mmol), seguido de agitación durante 2 días con calentamiento a reflujo. La mezcla de reacción se concentró por destilación a presión reducida, y se extrajo con acetato de etilo (15 ml) y agua (5 ml) (x 3 veces). La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico anhidro, y se purificó por cromatografía en columna [hexano (Hex):acetato de etilo (EtOAc) = 15:1] para proporcionar 3-{2-(4-

25 El compuesto (99 mg, 0,21 mmol) se disolvió en metanol (MeOH) [1 ml], y se añadió HCl conc. (0,02 ml, 0,25 mmol). La solución se agitó durante 1 día, y se secó a presión reducida para obtener un sólido. Este se secó al vacío para

proporcionar el compuesto (74 mg, 98 %).

RMN ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,46 (1H, m), 8,30 (1H, d, J = 9,0 Hz), 7,95 (1H, m), 7,43-6,81 (6H, m), 3,72 (3H, s), 2,42 (2H, t, J = 7,2 Hz), 1,53 (2H, c, J = 9,0 Hz), 0,91 (3H, t, J = 9,0 Hz).

5 **EJEMPLO COMPARATIVO: Síntesis de 3-fenil-4-bencil-5-benciloxi-1-(2-piridinil)pirazol] (denominado en lo sucesivo Compuesto 18-233)**



... [Fórmula Química 11]

10 En un matraz de fondo redondo de 10 ml, se agitaron conjuntamente 3-fenil-4-bencil-1-(piridin-2-il)-1H-pirazol-5-ol (100 mg, 0,30 mmol), carbonato potásico (58 mg, 0,42 mmol) y DMF (1 ml) a temperatura ambiente durante 10 min. Después de la adición de bromuro de bencilo (55 µl, 0,46 mmol), se llevó a cabo agitación durante 2 h. Se añadió H₂O (3 ml), seguido de extracción con acetato de etilo (3 x 5 ml). El agua se retiró con MgSO₄, y el residuo se filtró. La separación por cromatografía en columna (Hex:EtOAc = 2:1) proporcionó el compuesto de Fórmula Química 11 (65 mg, 52 %).

15 RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 8,61-8,59 (m, 1H), 8,06 (d, 1H, J = 8,3 Hz), 7,80 (t, 1H, J = 8,4 Hz), 7,58-7,48 (m, 5H), 7,21-7,07 (m, 7H), 6,96 (d, 2H, J = 7,9 Hz), 6,55 (d, 2H, J = 7,1 Hz), 4,91 (s, 2H), 3,69 (s, 2H); EI-MS (70 eV) m/z (intensidad rel.) 417 (M⁺, 6), 339 (39), 326 (61), 296 (40), 206 (26), 193 (85), 121 (15), 91 (100).

20 **EJEMPLO 10: Examen del cambio de estado en un animal experimental por parte del compuesto de la presente invención**

25 Todos los experimentos con animales se llevaron a cabo con la aprobación del Comité Institucional de Cuidados y Uso de Animales de la Universidad de Mujeres de Ewha. Se examinaron los efectos de los compuestos de la presente invención en un modelo de diabetes de tipo 1. Para este fin, en primer lugar, se examinaron los niveles de glucosa en sangre de ratones C57BL/6J, de 8 semanas de edad, después de la administración de estreptozocina a una dosis de 50 mg/kg durante 5 días (Hwang I, Lee J, Park J, Huh JY, Lee HB, Ho YS, Ha H: Catalase deficiency accelerates diabetic renal injury through peroxisomal dysfunction. *Diabetes*: 72 8-738, 2012). A continuación, se administró a los ratones por vía oral 1-(piridin-2-il)-3-fenil-4-propil-2H-pirazol-5-ol·HCl, el compuesto del Ejemplo 1, a una dosis de 10 mg/kg/día durante 12 semanas. Después de 12 semanas de administración, se sacrificaron, y se midieron muestras de sangre de los mismos para niveles de glucosa en sangre, hemoglobina A1c (HbA1c), y creatinina en plasma. Para los niveles de proteínas en orina, se tomaron muestras de orina. Se midieron los niveles de proteínas en orina. Los niveles de glucosa en sangre, HbA1c, creatinina en plasma, y proteínas en orina se midieron usando ONETOUCH Ultra de Johnson & Johnson, el analizador DCA2000+ de SIEMENS, el kit de detección de creatinina en suero Detect X de Arbor Assays, y el kit de ensayo de proteínas de Bio-Rad de Bio-Rad Laboratories, respectivamente. El control (WT) representa un grupo en el que no se indujo diabetes mellitus de tipo 1, el grupo de diabetes (DM) un grupo en el que se indujo diabetes mellitus de tipo 1, y el grupo de tratamiento (DM + compuesto del Ejemplo 1) un grupo que se trató con el compuesto del Ejemplo 1 después de la introducción de diabetes mellitus de tipo 1.

40 Los resultados del cambio de estado de los animales experimentales, causado por el compuesto de la presente invención, se resumen a continuación en la Tabla 1.

TABLA 1

	Control (WT)	Grupo de diabetes (DM)	Grupo de tratamiento (DM + Compuesto del Ejemplo 1)
Peso corporal (g)	30 ± 1	22 ± 1*	23 ± 1*
Glucosa en sangre (mg/dl)	162 ± 11	549 ± 13*	531 ± 21*
HbA1c (%)	4,5 ± 0,1	10,0 ± 0,4*	10,4 ± 0,3*
Peso renal (g)	0,19 ± 0,01	0,22 ± 0,01*	0,22 ± 0,01*

Peso renal/Peso corporal (g/kg)	6,3 ± 0,1*	10,3 ± 0,5*	9,9 ± 0,5*
Creatinina en plasma (mg/dl)	0,19 ± 0,03	0,24 ± 0,03	0,25 ± 0,04
Albúmina en orina (relativa al control)	1,00 ± 0,03	1,55 ± 0,09*	1,26 ± 0,04†

Los datos de Tabla 1 se expresan como el valor medio ± error estándar (SE) de 8 a 12 ratones por grupo. La comparación estadística entre los grupos se analizó mediante ANOVA y ensayo de diferencia mínima significativa de Fischer, con significación a $p < 0,05$. * $P < 0,05$ frente a WT, † $P < 0,05$ frente a DM.

5 Como se puede observar en la Tabla 1, el grupo de diabetes (DM) disminuyó en peso corporal y aumentó en nivel de glucosa en sangre y nivel de hemoglobina A1c, en comparación con el control (WT), lo que indicó que el grupo de diabetes mantuvo la hiperglucemia durante 12 semanas después de la introducción de diabetes mellitus de tipo 1. Dado que se descubrió que el grupo de diabetes aumenta en peso renal y proporción de peso renal con respecto a peso corporal, además, se causó hipertrofia en el grupo de diabetes. Además, el grupo de diabetes aumentó en el nivel de excreción de albúmina, aunque no fue diferente en la creatinina en plasma en comparación con el control. Los ratones a los que se administró 1-(piridin-2-il)-3-fenil-4-propil-1*H*-pirazol-5-ol·HCl, el compuesto del Ejemplo 1, después de la introducción de diabetes mellitus (grupo de tratamiento) no exhibieron ninguna diferencia significativa en peso corporal, glucosa en sangre, hemoglobina A1c, peso renal, peso renal/peso corporal, y creatinina en plasma, en comparación con el grupo de diabetes, pero disminuyeron en albúmina en orina.

Por lo tanto, se descubrió que el compuesto de la presente invención (1-(piridin-2-il)-3-fenil-4-propil-1*H*-pirazol-5-ol·HCl) tiene un efecto nefroprotector dado que disminuyó la proteinuria causada por enfermedad renal diabética (excreción de albúmina).

20 EJEMPLO 11: Examen de hipertrofia glomerular y expansión mesangial glomerular

Para el análisis morfológico con el fin de examinar hipertrofia glomerular y formación de células mesangiales glomerulares, se usó el método de tinción que se ha desvelado previamente (Lee EA, Seo JY, Jiang Z, Yu MR, Kwon MK, Ha H, Lee HB: Reactive oxygen species mediate high glucose-induced plasminogen activator inhibitor-1 up-regulation in mesangial cells and in diabetic kidney. *Kidney Int.* 67:1762-71, 2005).

30 Como se ha descrito en el Ejemplo 10, se indujo diabetes en ratones que a continuación se trataron con 1-(piridin-2-il)-3-fenil-4-propil-1*H*-pirazol-5-ol·HCl, el compuesto del Ejemplo 1, y se sacrificaron 12 semanas después. Después de perfusión cardiaca con PBS 0,1 M (solución salina tamponada con fosfato), se llevó a cabo la fijación tisular durante una noche con PLP al 2 % (paraformaldehído-lisina-peryodato). La inclusión en parafina se llevó a cabo como sigue a continuación: tratamiento secuencial con: etanol al 70 % durante 1 h; etanol al 80 % durante 1 h; etanol al 90 % durante 1 h; etanol al 95 % durante 1 h, dos veces; etanol al 100 % durante 1 h, tres veces; xileno durante 30 min, dos veces; parafina durante 30 min; y parafina durante 1,5 h. El tejido en parafina se cortó con una sección de 4 μm de espesor, seguido de tinción con PAS (ácido peryódico-Schiff) para detectar membranas basales y deposición de glucógeno. En un tejido renal, se exploraron 30 glomérulos, y se midió su tamaño y formación de células mesangiales, usando el software Image-Pro Plus 4.5 (MEDIA CYBERNETICS). El tamaño glomerular se calculó de acuerdo con la Ecuación 1.

40 [Ecuación 1]

$$\text{Tamaño glomerular} = (\text{área de sección de glomérulo})^{3/2} \times B/K$$

45 en la que B (= 1,38) es un factor de forma de una esfera, y k (= 1,1) es un coeficiente de distribución de tamaño de partícula.

Los resultados experimentales se dan en la Figura 1. La Figura 1 muestra imágenes de glomérulos teñidos con PAS (ácido peryódico-Schiff) (A), un gráfico de volúmenes glomerulares (B), y un gráfico de áreas mesangiales fraccionarias (C). En la Figura 1, el control (WT) representa un grupo en el que no se indujo diabetes mellitus de tipo 1, el grupo de diabetes (DM) un grupo en el que se indujo diabetes mellitus de tipo 1, y el grupo de tratamiento (DM + compuesto del Ejemplo 1) un grupo que se trató con el compuesto del Ejemplo 1 después de introducción de diabetes mellitus de tipo 1. Los datos de la Figura 1 se expresan como el valor medio ± error estándar (SE) de 8 a 12 ratones por grupo. La comparación estadística entre los grupos se analizó mediante ANOVA y ensayo de diferencia mínima significativa de Fischer, con significación a $p < 0,05$. * $P < 0,05$ frente a WT, † $P < 0,05$ frente a DM.

55 Como se puede observar en la Figura 2, el tamaño glomerular del grupo tratado con el compuesto del Ejemplo 1 aumentó, en comparación con el control, pero fue significativamente menor que el del grupo de diabetes, mientras que la expansión mesangial glomerular en el grupo de tratamiento se redujo al nivel del control, en comparación con el grupo de diabetes.

Estos resultados demostraron que los compuestos de la presente invención pueden prevenir fibrosis renal por supresión de la acumulación de colágeno tubulointersticial y mesangial renal a través de la regulación negativa de colágeno $\alpha 1$ de la matriz extracelular en células tubulares proximales.

5 Por lo tanto, se descubrió que el compuesto de la presente invención (1-(piridin-2-il)-3-fenil-4-propil-1*H*-pirazol-5-ol·HCl) tiene efectos nefroprotectores por reducción del tamaño glomerular y la expansión mesangial glomerular en modelos de animales con enfermedad renal diabética inducida.

10 EJEMPLO 12: Examen de supresión de acumulación de colágeno y reducción de macrófagos

Tinción inmunohistoquímica

15 La tinción inmunohistoquímica se llevó a cabo como se ha desvelado previamente (Noh H, Kim JS, Han K-H, Lee GT, Song JS, Chung SH, Jeon JS, Ha H, Lee HB: Oxidative stress during peritoneal dialysis: implications in functional and structural changes in the membrane. *Kidney Int.* 69: 2022-2028, 2006).

En resumen, como se describe en el Ejemplo 11, se indujo diabetes en ratones que a continuación se trataron con 1-(piridin-2-il)-3-fenil-4-propil-1*H*-pirazol-5-ol·HCl, el compuesto del Ejemplo 1, y se sacrificaron 12 semanas después. Después de perfusión cardiaca con PBS 0,1 M (solución salina tamponada con fosfato), se llevó a cabo la fijación tisular durante una noche con PLP al 2 % (paraformaldehído-lisina-peryodato). La inclusión en parafina se llevó a cabo mediante tratamiento secuencial con: etanol al 70 % durante 1 h; etanol al 80 % durante 1 h; etanol al 90 % durante 1 h; etanol al 95 % durante 1 h, dos veces; etanol al 100 % durante 1 h, tres veces; xileno durante 30 min, dos veces; parafina durante 30 min; y parafina durante 1,5 h. El tejido en parafina se cortó con una sección de 4 μ m de espesor, seguido de desparafinación con alcohol. Con el fin de mejorar la penetración del anticuerpo en el mismo, el tejido renal se sumergió en tampón citrato 10 mM (pH 6,0), se calentó en un microondas (a 700 vatios durante 5 min y a continuación a 100 vatios durante 5 min), y a continuación se incubó finalmente a temperatura ambiente durante 30 min. Se retiró la peroxidasa intrínseca por tratamiento con reactivo bloqueante de peroxidasa (Reactivo bloqueante de peroxidasa listo para uso, Dakocytomation) durante 30 min. Posteriormente, el tejido renal se incubó con una solución bloqueante de proteínas sin suero (Solución bloqueante de proteínas sin suero lista para uso, Dakocytomation) durante 15 min y a continuación durante una noche con un anticuerpo primario (F4/80, Santa Cruz) a 4 °C, seguido de amplificación con el kit ABC (Santa Cruz) usando el método ABC (complejo avidina-biotina-enzima). Se desarrolló color con un sistema cromogénico líquido con sustrato DAB (Dakocytomation) antes de observación al microscopio óptico.

Tinción tricrómica de Masson y con rojo picrosirius

Para examinar la lesión tisular, se llevó a cabo tinción tricrómica de Masson (Sigma-Aldrich) y con rojo picrosirius (Sigma-Aldrich), de acuerdo con las instrucciones del fabricante. El grado de lesión tisular se expresó como acumulación de colágeno tubulointersticial por área.

Los resultados de la tinción inmunohistoquímica (IHC F4/80), la tinción tricrómica de Masson, y la tinción con rojo picrosirius se muestran en la Figura 2. En la Figura 2, el control (WT) representa un grupo en el que no se indujo diabetes mellitus de tipo 1, el grupo de diabetes (DM) un grupo en el que se indujo diabetes mellitus de tipo 1, y el grupo de tratamiento (DM + compuesto del Ejemplo 1) un grupo que se trató con el compuesto del Ejemplo 1 después de introducción de diabetes mellitus de tipo 1. Los puntos de color negro en los paneles de IHC F4/80 de la Figura 2 representan la expresión de F4/80 mientras que la acumulación de colágeno está representada por los colores azul y rojo en los paneles de tinción tricrómica de Masson y rojo picrosirius, respectivamente.

50 Como se puede observar en la Figura 2, se visualizan sitios de color azul más abundantes en el grupo de diabetes que en el control que están teñidos con tinción tricrómica de Masson. El grupo tratado con el compuesto del Ejemplo 1 se visualiza con un área menor de color azul de tinción tricrómica de Masson que el grupo de diabetes. La tinción con rojo picrosirius visualizó el grupo de diabetes con una mayor área de color rojo, en comparación con el control mientras que se visualizó un área menor de color rojo del grupo tratado con el compuesto del Ejemplo 1, en comparación con el grupo de diabetes. Volviendo a la tinción inmunohistoquímica (F4/80), se visualizó una mayor área de color negro del grupo de diabetes, en comparación con el control. Además, el grupo tratado con el compuesto del Ejemplo 1 se tiñó de negro en un área menor que la del grupo de diabetes.

60 Por consiguiente, la tinción tricrómica de Masson y la tinción con rojo picrosirius, ambas diseñadas para examinar acumulación en la matriz extracelular, indicaron una mayor acumulación de colágeno en el grupo de diabetes que en el de control. Además, se detectó una mayor cantidad de macrófagos en el grupo de diabetes que en el grupo de control, según se demuestra mediante la tinción inmunohistoquímica (F4/80). Por el contrario, la administración del compuesto del Ejemplo 1, 1-(piridin-2-il)-3-fenil-4-propil-1*H*-pirazol-5-ol·HCl, a los ratones con diabetes inducida (el grupo de tratamiento del compuesto de Ejemplo 1) redujo significativamente la acumulación de colágeno y la producción de macrófagos (F4/80).

Por lo tanto, se descubrió que el compuesto (1-(piridin-2-il)-3-fenil-4-propil-1*H*-pirazol-5-ol·HCl) de acuerdo con la presente invención inhibe la acumulación de colágeno y reduce la producción de macrófagos (F4,80) en modelos de animales con enfermedad renal diabética inducida, para exhibir de ese modo efectos nefroprotectores.

5 EJEMPLO 13: Examen de supresión de fibrosis renal [análisis por PCR (reacción en cadena de polimerasa) en tiempo real]

Se aisló ARN total usando el reactivo Trizol (Invitrogen) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. El aislado de ARN total se usó para PCR en tiempo real.

10 En resumen, como se describe en el Ejemplo 10, se indujo diabetes, y se administró 1-(piridin-2-il)-3-fenil-4-propil-1*H*-pirazol-5-ol·HCl, el compuesto del Ejemplo 1 de la presente invención, a los ratones que se sacrificaron 12 semanas después. A continuación, se extirparon los tejidos renales de los ratones y se homogeneizaron con una cantidad predeterminada (500 µl) de reactivo Trizol (Invitrogen), seguido de centrifugación del homogenato (13.000 rpm, 10 min). El sobrenadante se hizo reaccionar con 200 µl de cloroformo durante 15 min y se centrifugó. El ARN total precipitó con alcohol isopropílico, y se lavó con alcohol etílico 75 % antes de su uso en los experimentos. A partir de 2 µg de ARN total, se sintetizó ADNc usando un kit de transcripción inversa (Applied Biosystems), y se analizó cuantitativamente ARNm selectivo en una termocicladora de PCR en tiempo real ABI 7300 (Applied Biosystems) con la ayuda del kit de Mezcla maestra de PCR SYBR Green de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Cada experimento se realizó por duplicado con 20 µl. Para cuantificación e identificación correctas de los resultados de un producto individual, se emplearon una curva estándar y una curva de disociación. La PCR se llevó a cabo con 40 ciclos térmicos de 95 °C durante 15 s y 56 °C durante 1 min. Los conjuntos de cebadores para la amplificación de los genes de interés se sintetizaron en Bionia (Daejeon, Corea) como se muestra en la Tabla 2. Los resultados de PCR en tiempo real se muestran en la Figura 3.

25 TABLA 2

Gen	Secuencia del cebador directo	SEQ. ID. No.	Secuencia del cebador inverso	SEQ. ID. No.
Colágeno Ia1	5' – CGGATAGCAGATTGAGAACAT CCG–3'	1	5' – CGGCTGAGTACGGAACACACA– 3'	2
Colágeno IV	5' – CACGAGCTTCCCTGGTAGTCG TG–3'	3	5' – GGACAACCTTTGCTGCCTCA– 3'	4
F4/80	5' – CTGTAACCGGATGGCAAAC– 3'	5	5' – ATGGCCAAGGCAAGACATAC– 3'	4
Fibronectina	5' – CGGCGTATGCTGTCACTGGCC G–3'	7	5' – AAGTTGAAGGCAGCCACCTG– 3'	8
TGF-β1	5' – GGACTCTCCACCTGCAAGAC– 3'	9	5' – GACTGGCGAGCCTTAGTTTG– 3'	10
ARNr 18S	5' – CGAAAGCATTGCCAAGAAT– 3'	11	5' – AGTCGGCATCGTTTATGGTC– 3'	12

30 La Figura 3 muestra gráficos de las proporciones de los niveles de expresión de ARNm de TGF-β1 con respecto a ARNr 18S (A), las proporciones de los niveles de expresión de ARNm de fibronectina con respecto a ARNr 18S (B), las proporciones de los niveles de expresión de ARNm de colágeno IV con respecto a ARNr 18S (C), las proporciones de los niveles de expresión de ARNm de colágeno Ia1 con respecto a ARNr 18S (D), las proporciones de los niveles de expresión de ARNm de F4/80 con respecto a ARNr 18S (E). En la Figura 3, el control (WT) representa un grupo en el que no se indujo diabetes mellitus de tipo 1, el grupo de diabetes (DM) un grupo en el que

se indujo diabetes mellitus de tipo 1, y el grupo de tratamiento (DM + compuesto del Ejemplo 1) un grupo que se trató con el compuesto del Ejemplo 1 después de introducción de diabetes mellitus de tipo 1. Los datos de la Figura 3 se expresan como el valor medio \pm error estándar (SE) de 8 a 12 ratones por grupo. La comparación estadística entre los grupos se analizó mediante ANOVA y ensayo de diferencia mínima significativa de Fischer, con significación a $p < 0,05$. * $P < 0,05$ frente a WT, † $P < 0,05$ frente a DM.

Como se puede observar en la Figura 3, los ratones con diabetes inducida a los que se administró 1-(piridin-2-il)-3-fenil-4-propil-1*H*-pirazol-5-ol·HCl, el compuesto del Ejemplo 1 de la presente invención (el grupo de tratamiento del compuesto del Ejemplo 1), disminuyeron significativamente los niveles de expresión de TGF- β 1, un factor relacionado con la fibrosis renal, y de fibronectina, colágeno α 1, colágeno IV, bien conocidas como proteínas de la matriz extracelular, y del factor inflamatorio F4/80, en comparación con el grupo de diabetes.

Por consiguiente, se descubrió que el compuesto (1-(piridin-2-il)-3-fenil-4-propil-1*H*-pirazol-5-ol·HCl) de acuerdo con la presente invención tiene un efecto nefroprotector dado que inhibe la fibrosis renal.

EJEMPLO 14: Examen del efecto inhibitor del Compuesto en la expresión de colágeno α 1 en células tubulares proximales

Se cedieron mProx24, que es el nombre de células tubulares proximales obtenidas de segmentos de túbulo proximales obtenidas mediante corte fino de riñón de ratones adultos C57BL6/J, del Profesor Sugaya, Escuela Universitaria de Medicina de St. Marianna, Kanagawa, Japón. Se cultivaron mProx24 en DMEM (medio Eagle modificado por Dulbecco) complementado con suero de ternera fetal al 10 % (FCS, Gibco), 100 U/ml de penicilina, 100 μ g/ml de estreptomina, y NaHCO_3 44 mM a 37 °C en atmósfera del 5 % de CO_2 . Para la cuantificación de la expresión de ARN, las células se cultivaron en placas de 6 pocillos. Cuando las células crecieron hasta una confluencia de un 90 %, el medio se cambió a FCS al 0,15 % reciente (Gibco) complementado con DMEM. La incubación en este medio durante 24 h detuvo el crecimiento celular para sincronizar el ciclo de crecimiento en las células. Se disolvieron los compuestos de los Ejemplos 1 a 9 y el Ejemplo Comparativo, respectivamente, en DMSO (dimetilsulfóxido) para formar una concentración de 50 mM, y se sometieron a dilución seriada hasta 10 mM, 1 mM, 0,1 mM, y 0,01 mM. Las soluciones 10 mM, 1 mM, 0,1 mM, y 0,01 mM de cada uno de los compuestos de los Ejemplos 1 a 9 y el Ejemplo Comparativo se diluyeron 1000 veces en FCS al 0,15 % (Gibco) complementado con DMEM para formar concentraciones finales de 10 μ M, 1 μ M, 0,1 μ M, y 0,01 μ M, respectivamente. Además, se usó 0 μ M (1 μ l de DMSO). Las células se incubaron durante 1 h en las diluciones y a continuación durante 6 h en presencia de 5 ng/ml de factor crecimiento transformante β 1 humano recombinante (hTGF- β 1, R&D Systems). Para el control, no se usó hTGF- β 1. Se extrajo ARN total de mProx24 usando Trizol (Invitrogen). Para la cuantificación de la expresión de ARNm, se sometió un volumen de reacción de 20 μ l que incluía transcripciones de ADNc, parejas de cebadores, y Mezcla maestra de PCR SYBR Green (Applied Biosystems) a PCR en tiempo real con la ayuda de StepOnePlus (Applied Biosystems) (condiciones de PCR en tiempo real: 95 °C, 10 min \rightarrow 40 ciclos térmicos de desnaturalización a 95 °C durante 15 s e hibridación de cebadores a 60 °C durante 1 min \rightarrow 95 °C durante 15 s, 60 °C durante 1 min, y 95 °C durante 15 s para medir una curva de fusión). La cuantificación se normalizó con respecto al nivel de expresión de ARNr 18S. Una pareja de cebadores para colágeno α 1 de ratón fue 5'-GAACATCACCTACCACTGCA-3' (SEQ ID NO: 13) y 5'-GTTGGGATGGAGGGAGTTTA-3' (SEQ ID NO: 14). Los cebadores directo e inverso para ARNr 18S de ratón fueron 5'-CGA AAG CAT TTG CCA AGA AT-3' (SEQ ID NO: 11) y 5'-AGT CGG CAT CGT TTA TGG TC-3' (SEQ ID NO: 12), respectivamente.

Los resultados de los experimentos se dan en las Tablas 3 a 12 y las Figuras 4 a 13. Las Tablas 3 a 12 y las Figuras 4 a 13 muestran los efectos inhibitorios de los compuestos de los Ejemplos 1 a 9 y el Ejemplo Comparativo 1 en la expresión de colágeno α 1 en células tubulares proximales.

Los datos de las Tablas 3 a 12 y las Figuras 4 a 13 son mediciones de experimentos repetidos de tres a cinco veces para cada concentración, y se expresan como el valor medio \pm error estándar (SE). La comparación estadística entre los grupos se analizó mediante ANOVA y ensayo de diferencia mínima significativa de Fischer, con significación a $p < 0,05$. * $P < 0,05$ frente a WT, † $P < 0,05$ frente a DM.

En las Tablas 3 a 12, se muestran los valores medios de las proporciones de los niveles de expresión de colágeno α 1 (Col1 α) con respecto a ARN 18S (18S), y el % de inhibición frente a la expresión de colágeno α 1 para cada grupo, junto con el valor de CI_{50} (μ M). A este respecto, el % de inhibición significa la inhibición relativa con respecto a un 100 % para el control y un 0 % para el grupo que se trató con hTGF- β 1 pero con ninguno de los compuestos de los Ejemplos o el Ejemplo Comparativo.

Las Figuras 4 a 13 muestran las proporciones de los niveles de expresión de colágeno α 1 (Col1 α) con respecto a ARN 18S (18S) (aumento relativo) para cada grupo.

ES 2 734 264 T3

TABLA 3

18-278	Media	SE	tasa de inhibición de expresión (%)
Control	0,107	0,034	100,00
0	1	0	0,00
0,01	0,821	0,058	20,04
0,1	0,701	0,037	33,48
1	0,516	0,049	54,20
10	0,369	0,026	70,66
Cl ₅₀	0,742		

TABLA 4

18-001	Media	SE	tasa de inhibición de expresión (%)
Control	0,186	0,029	100,00
0	1,000	0	0,00
0,01	0,748	0,084	30,96
0,1	0,698	0,1	37,10
1	0,642	0,04	43,98
10	0,345	0,025	80,47
Cl ₅₀	3,191		

TABLA 5

18-066	Media	SE	tasa de inhibición de expresión (%)
Control	0,289	0,035	100,00
0	1	0	0,00
0,01	0,785	0,123	30,24
0,1	0,717	0,089	39,80
1	0,726	0,04	38,54
10	0,583	0,059	58,65
Cl ₅₀	2,137		

TABLA 6

18-067	Media	SE	tasa de inhibición de expresión (%)
Control	0,164	0,037	100,00
0	1,000	0	0,00
0,01	0,700	0,06	35,59
0,1	0,607	0,071	46,62
1	0,562	0,025	51,96
10	0,325	0,035	80,07
Cl ₅₀	0,299		

TABLA 7

18-082	Media	SE	tasa de inhibición de expresión (%)
Control	0,246	0,065	100,00
0	1,000	0	0,00
0,01	0,710	0,097	39,51

ES 2 734 264 T3

0,1	0,605	0,051	53,81
1	0,391	0,035	82,97
10	0,312	0,027	93,73
Cl ₅₀	0,105		

TABLA 8

18-095	Media	SE	tasa de inhibición de expresión (%)
Control	0,192	0,036	100,00
0	1,000	0	0,00
0,01	0,699	0,084	37,25
0,1	0,663	0,053	41,71
1	0,504	0,081	61,39
10	0,268	0,042	90,59
Cl ₅₀	0,227		

TABLA 9

18-177	Media	SE	tasa de inhibición de expresión (%)
Control	0,267	0,037	100
0	1	0	0
0,01	0,96	0,166	5,46
0,1	0,839	0,077	21,96
1	0,742	0,129	35,20
10	0,438	0,084	76,67
Cl ₅₀	1,310		

TABLA 10

18-186	Media	SE	tasa de inhibición de expresión (%)
Control	0,222	0,043	100,00
0	1,000	0	0,00
0,01	0,825	0,132	22,49
0,1	0,569	0,031	55,40
1	0,586	0,055	53,21
10	0,583	0,053	53,60
Cl ₅₀	0,078		

TABLA 11

18-273	Media	SE	tasa de inhibición de expresión (%)
Control	0,283	0,06	100
0	1	0	0
0,01	0,408	0,033	82,57
0,1	0,835	0,092	23,01
1	0,832	0,072	23,43
10	0,46	0,045	75,31

Cl ₅₀	1,776
------------------	-------

TABLA 12

18-233	Media	SE	tasa de inhibición de expresión (%)
Control	0,186	0,027	100,00
0	1,000	0	0,00
0,01	0,933	0,047	8,23
0,1	0,757	0,029	29,85
1	0,712	0,045	35,38
10	0,656	0,04	42,26
Cl ₅₀	10,24		

5 Como se puede entender a partir de los datos de las Figuras 4 a 13, los compuestos de la presente invención inhibieron la expresión de la matriz extracelular, colágeno Iα1 (Col1α), en células tubulares proximales. Además, en las células tubulares proximales, los compuestos de la presente invención inhibieron generalmente la expresión la matriz extracelular, colágeno Iα1 (Col1α), de forma dependiente de la concentración (excepto para el compuesto del Ejemplo 9). Además, el compuesto del Ejemplo Comparativo disminuyó el nivel de expresión de la matriz extracelular, colágeno Iα1 (Col1α).

10 Sin embargo, se descubrió que los compuestos de la presente invención inhiben de forma más eficaz la expresión de la matriz extracelular, colágeno Iα1 (Col1α), debido a que sus valores de Cl₅₀ fueron al menos tres veces inferiores a los del compuesto del Ejemplo Comparativo.

15 Al descubrirse que suprimen la acumulación tubulointersticial de colágeno mediante la inhibición de la expresión de la matriz extracelular, colágeno Iα1, en células tubulares proximales, por lo tanto, los compuestos de la presente invención pueden suprimir la fibrosis renal.

LISTADO DE SECUENCIAS

20 <110> UNIVERSIDAD DE EWHA - FUNDACIÓN DE COLABORACIÓN CON LA INDUSTRIA

<120> Composición que comprende un derivado de pirazol para la prevención o el tratamiento de enfermedad renal

25 <130> P13014-EHWA

<150> KR 10-2012-0093936

<151> 2012-08-27

<160> 14

30 <170> KopatentIn 2.0

<210> 1

<211> 24

35 <212> ARN

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> cebador directo para el gen de Colágeno I alfa 1 de ratón

40 <400>1

cggatagcag attgagaaca tccg 24

<210> 2

<211> 21

45 <212> ARN

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> cebador inverso para el gen de Colágeno I alfa 1 de ratón

50 <400> 2

ES 2 734 264 T3

cggtgagta cggaacacac a 21

5 <210> 3
<211> 23
<212> ARN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> cebador directo para el gen de Colágeno IV de ratón

10 <400>3
cagagcttc cctgtagtc gtg 23

15 <210> 4
<211> 20
<212> ARN
<213> Secuencia Artificial

20 <220>
<223> cebador inverso para el gen de Colágeno IV de ratón

<400>4
ggacaacctt tgctgcctca 20

25 <210> 5
<211> 20
<212> ARN
<213> Secuencia Artificial

30 <220>
<223> cebador directo para el gen de F4/80 de ratón

<400> 5
ctgtaaccgg atggcaact 20

35 <210> 6
<211> 20
<212> ARN
<213> Secuencia Artificial

40 <220>
<223> cebador inverso para el gen de F4/80 de ratón

<400>6
atggccaagg caagacatac 20

45 <210> 7
<211> 22
<212> ARN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> cebador directo para el gen de fibronectina de ratón

55 <400> 7
cggcgtatgc tgcactggc cg 22

60 <210> 8
<211> 20
<212> ARN
<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> cebador inverso para el gen de fibronectina de ratón

<400>8
aagttgaagg cagccacctg 20

5

<210> 9
<211> 20
<212> ARN
<213> Secuencia Artificial

10

<220>
<223> cebador directo para el gen de TGF-beta 1 de ratón

<400>9
ggactctcca cctgcaagac 20

15

<210> 10
<211> 20
<212> ARN
<213> Secuencia Artificial

20

<220>
<223> cebador inverso para el gen de TGF-beta 1 de ratón

25

<400> 10
gactggcgag ccttagttg 20

30

<210> 11
<211> 20
<212> ARN
<213> Secuencia Artificial

35

<220>
<223> cebador directo para el gen de ARNr 18S de ratón

<400>11
cgaagcatt tgccaagaat 20

40

<210> 12
<211> 20
<212> ARN
<213> Secuencia Artificial

45

<220>
<223> cebador inverso para el gen de ARNr 18S de ratón

<400>12
agtcggcatc gttatggtc 20

50

<210> 13
<211> 20
<212> ARN
<213> Secuencia Artificial

55

<220>
<223> cebador directo para el gen de Colágeno I alfa 1 de ratón

<400>13
gaacatcacc taccactgca 20

60

<210> 14
<211> 20
<212> ARN

ES 2 734 264 T3

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> cebador inverso para el gen de Colágeno I alfa 1 de ratón

5

<400>14

gttgggatgg agggagtta 20

REIVINDICACIONES

1. Una composición para su uso en la prevención o el tratamiento de enfermedad renal;
 en la que la enfermedad renal se selecciona entre el grupo que consiste en enfermedad renal diabética, nefropatía hipertensiva, glomerulonefritis, pielonefritis, nefritis intersticial, nefritis lúpica, enfermedad renal poliquística e insuficiencia renal;
 y la enfermedad renal está relacionada con proteinuria, esclerosis glomerular, o fibrosis intersticial renal;
 que comprende un compuesto seleccionado entre los siguientes compuestos, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:

10 1-(piridin-2-il)-3-fenil-4-propil-1H-pirazol-5-ol;
 1-(piridin-2-il)-3-fenil-4-propil-1H-pirazol-5-ol·HCl;
 3-(3-metoxifenil)-1-(piridin-2-il)-1H-pirazol-5(4H)-ona;
 3-(4-bromofenil)-1-(piridin-2-il)-1H-pirazol-5-ol;
 15 acetato de 3-(4-bromofenil)-1-(piridin-2-il)-1H-pirazol-5-ilo;
 3-(3-yodofenil)-1-(piridin-2-il)-1H-pirazol-5-ol;
 3-((naftalen-3-iloxi)metil)-1-(piridin-2-il)-1H-pirazol-5-ol;
 3-(2-(benzo[d][1,3]dioxo)-5-il)fenil)-1-(piridin-2-il)-1H-pirazol-5-ol;
 3-(bifenil-4-il)-1-(pirimidin-2-il)-1H-pirazol-5-ol; y
 20 3-{2-(4-hidroxi-3-metoxifenil)vinil}-4-propil-1-(2-piridinil)pirazol-5-ol.

2. Una composición para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, comprendiendo la composición un compuesto seleccionado entre los siguientes compuestos, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:

25 1-(piridin-2-il)-3-fenil-4-propil-1H-pirazol-5-ol·HCl;
 acetato de 3-(4-bromofenil)-1-(piridin-2-il)-1H-pirazol-5-ilo;
 3-(3-yodofenil)-1-(piridin-2-il)-1H-pirazol-5-ol;
 3-((naftalen-3-iloxi)metil)-1-(piridin-2-il)-1H-pirazol-5-ol; y
 30 3-(bifenil-4-il)-1-(pirimidin-2-il)-1H-pirazol-5-ol.

FIG. 1

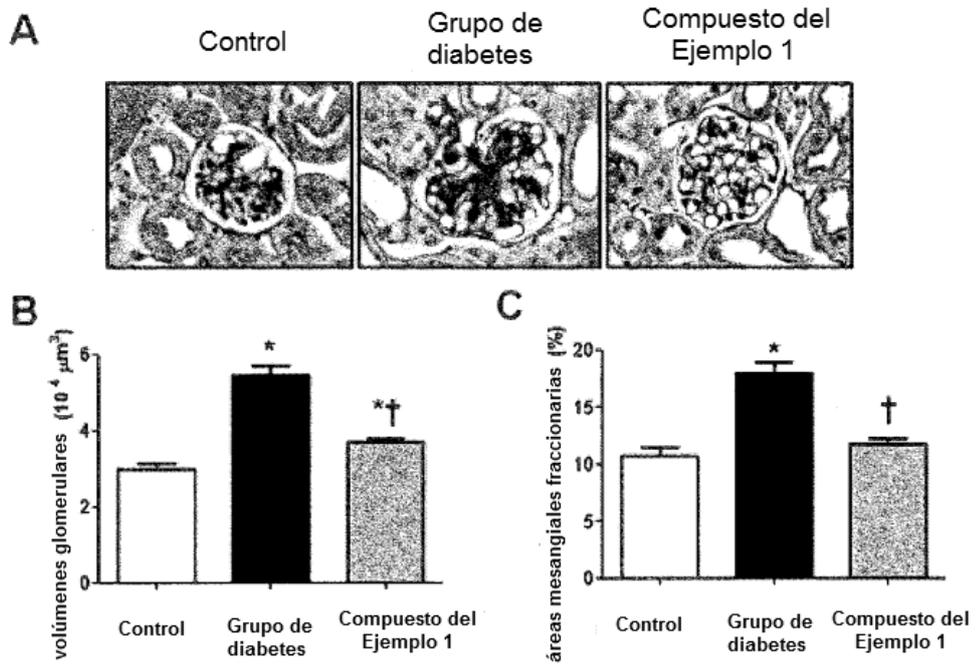


FIG. 2

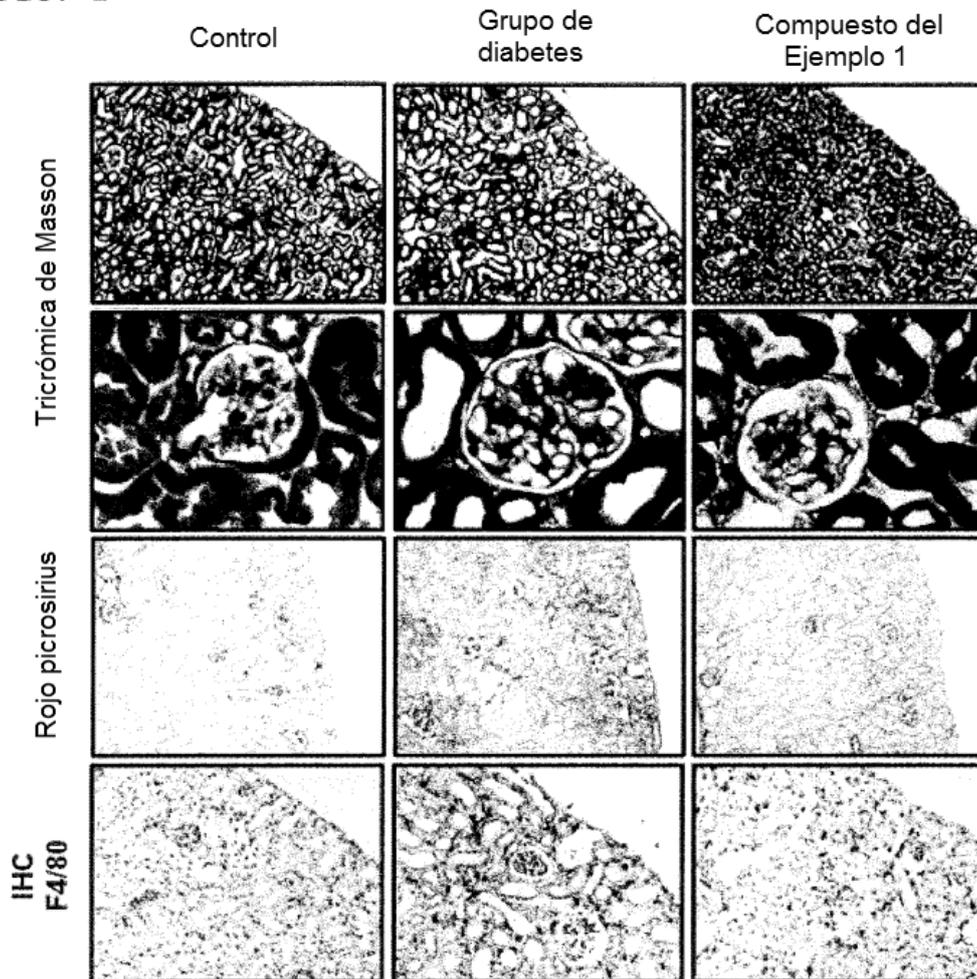


FIG. 3

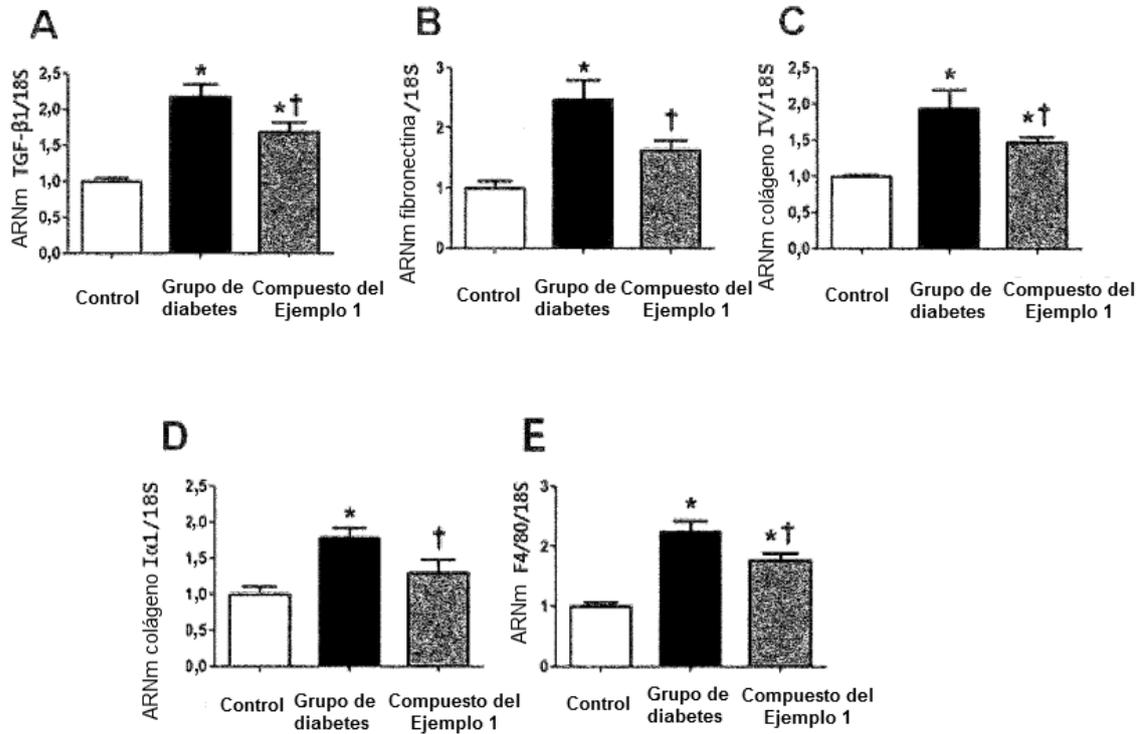


FIG. 4

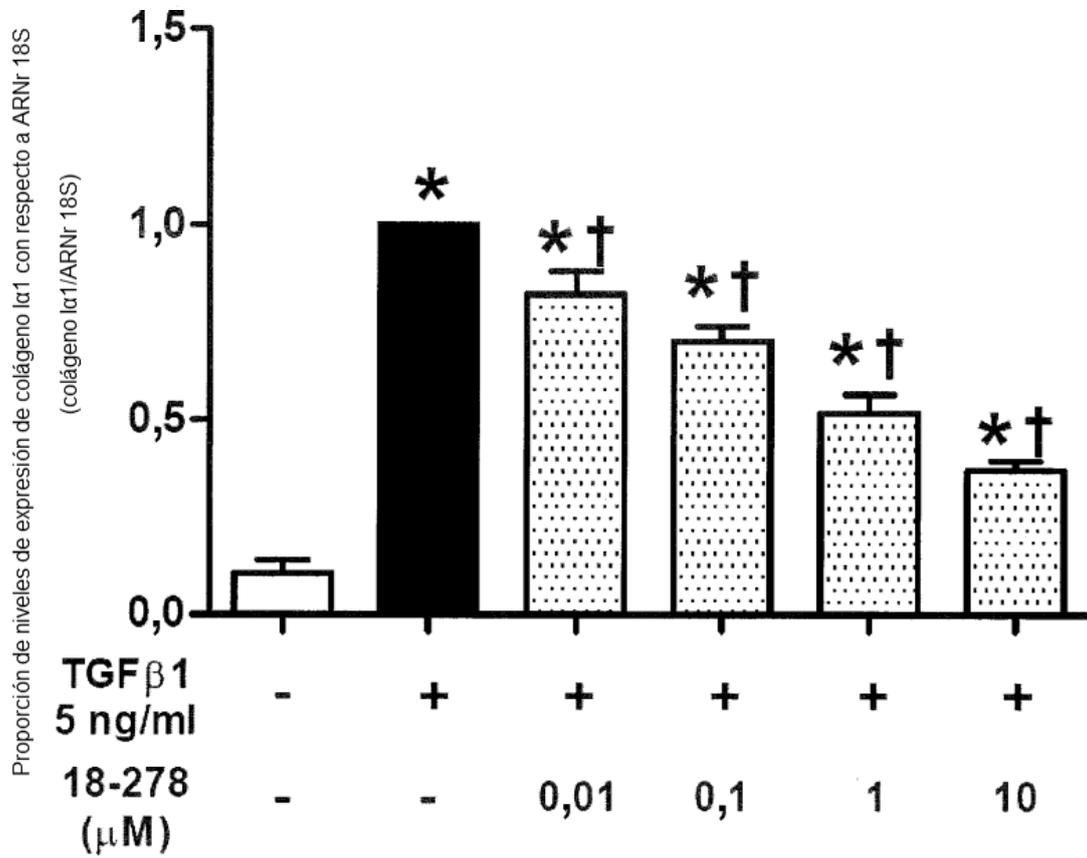


FIG. 5

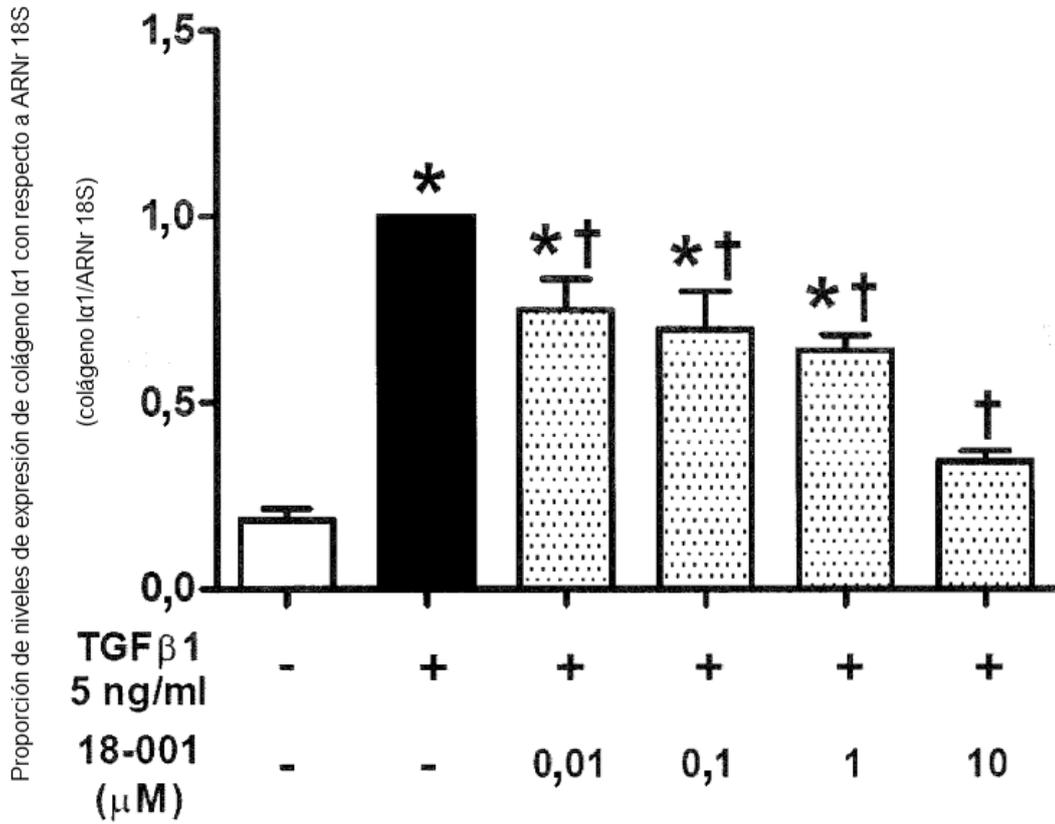


FIG. 6

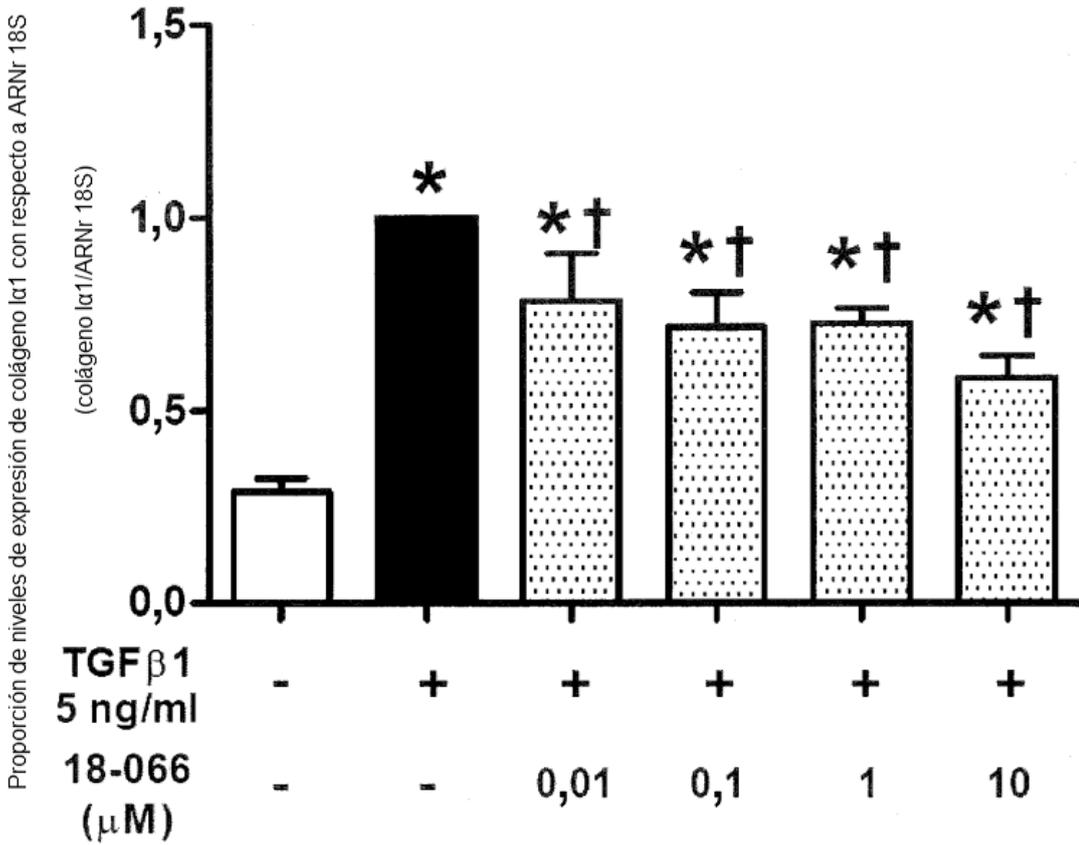


FIG. 7

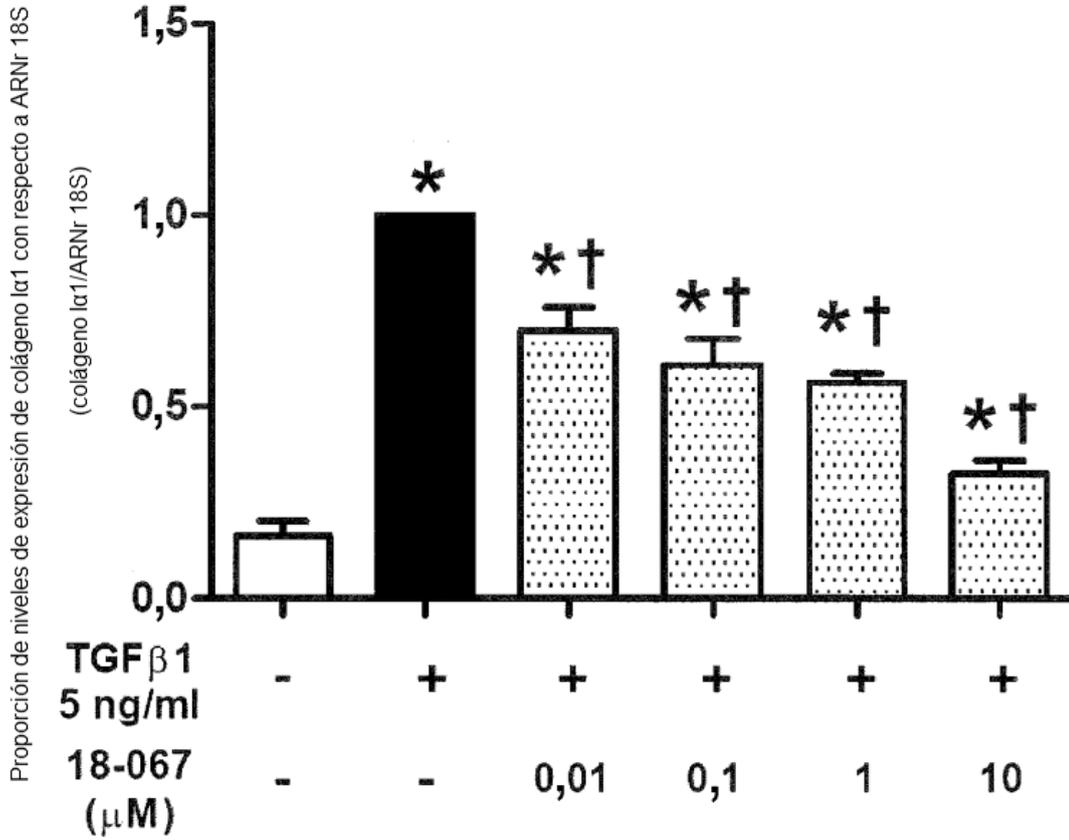


FIG. 8

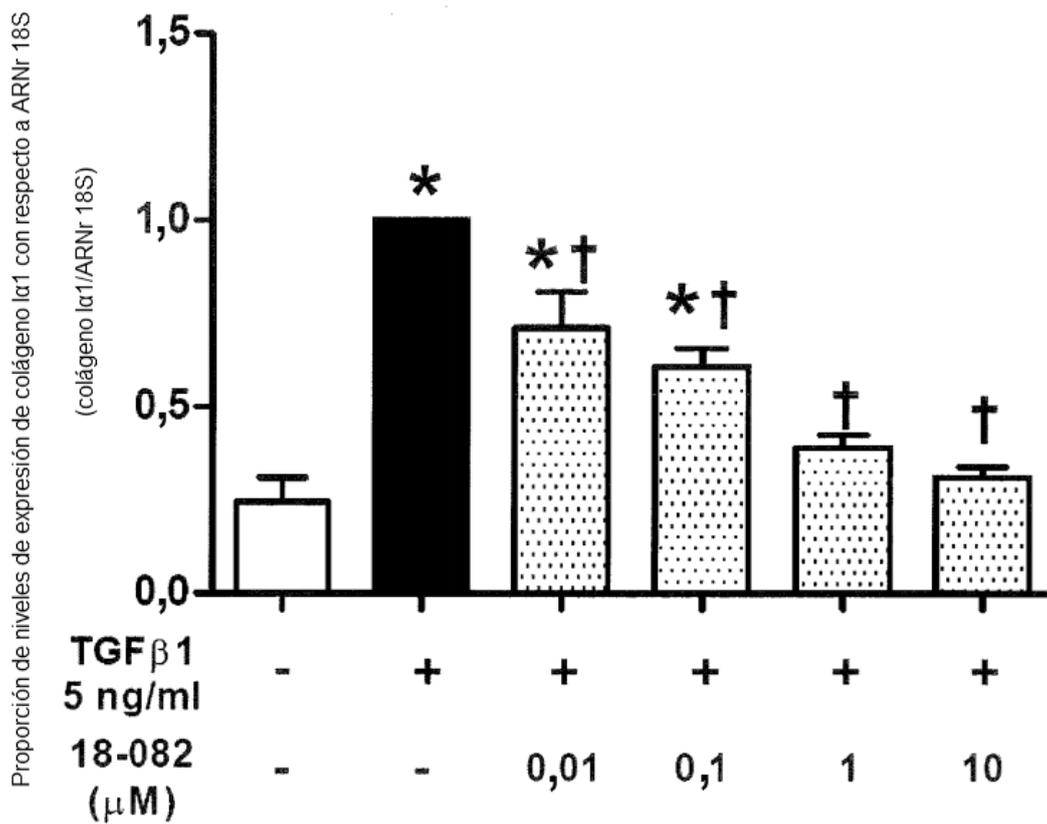


FIG. 9

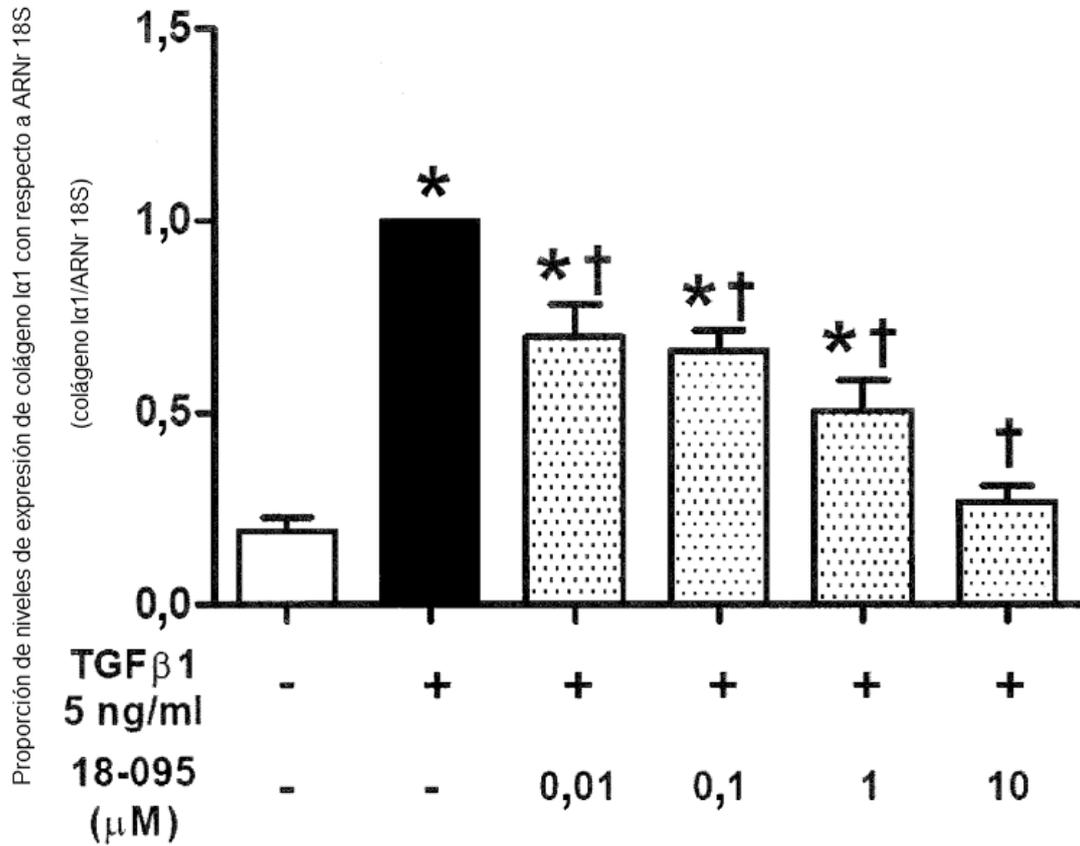


FIG. 10

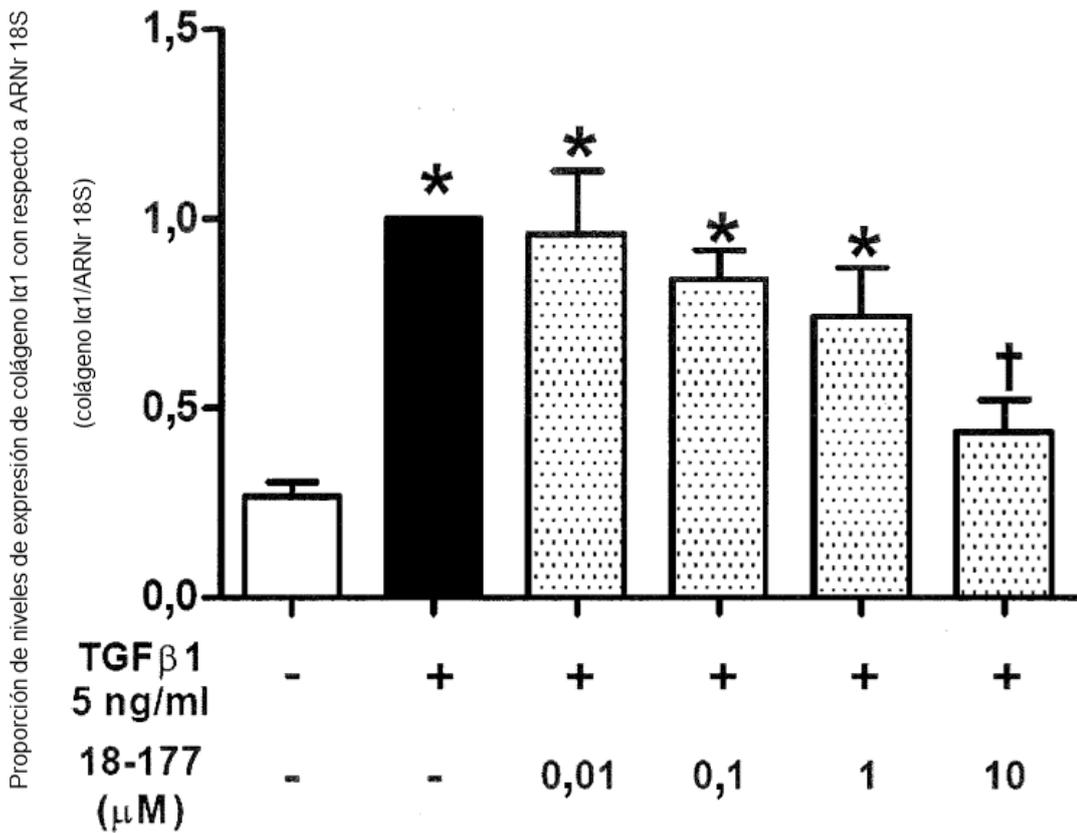


FIG. 11

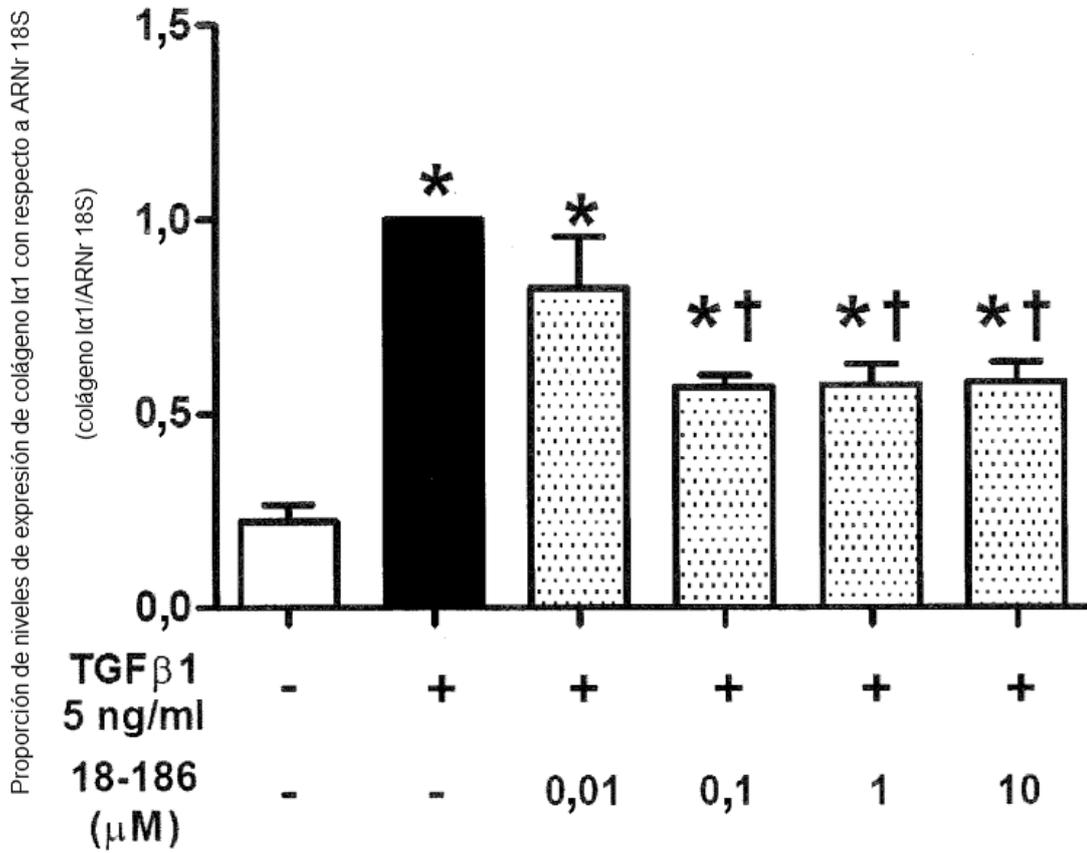


FIG. 12

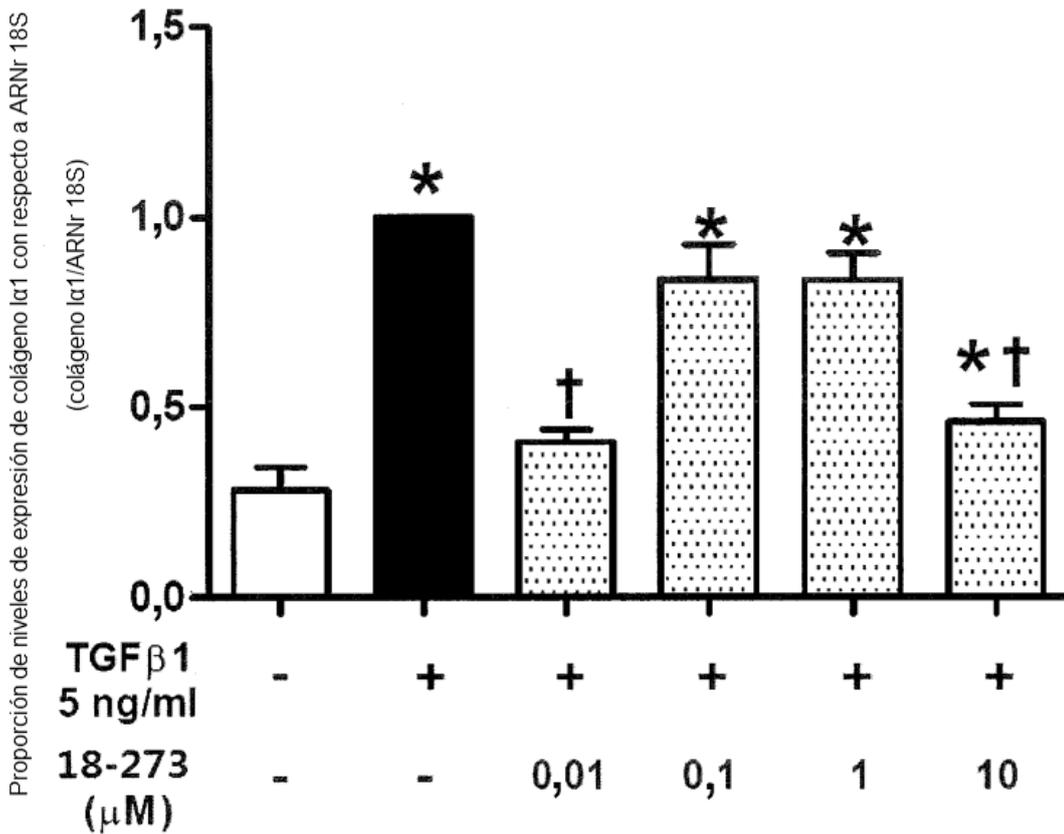


FIG. 13

