

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 745 819**

51 Int. Cl.:

C07D 487/14 (2006.01)

A61K 31/519 (2006.01)

A61P 9/00 (2006.01)

A61K 45/06 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **07.08.2015 PCT/US2015/044164**

87 Fecha y número de publicación internacional: **11.02.2016 WO16022893**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.08.2015 E 15829416 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.07.2019 EP 3177627**

54 Título: **Derivados de imidazo[1,2-a]-pirazolo[4,3-e]-pirimidin-4-ona con actividad inhibidora de la PDE1**

30 Prioridad:

07.08.2014 US 201462034567 P

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

03.03.2020

73 Titular/es:

**INTRA-CELLULAR THERAPIES, INC. (100.0%)
430 East 29th Street, Suite 900
New York, NY 10016, US**

72 Inventor/es:

**LI, PENG;
ZHENG, HAILIN;
ZHAO, JUN y
WENNOGLE, LAWRENCE P.**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 745 819 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

Derivados de imidazo[1,2-a]-pirazolo[4,3-e]-pirimidin-4-ona con actividad inhibidora de la PDE1

5 **Referencia cruzada a solicitudes relacionadas**

La presente solicitud reivindica la prioridad, así como el beneficio de, la solicitud provisional estadounidense n.º 62/034.567, presentada el 7 de agosto de 2014, cuyo contenido se incorpora por la presente a modo de referencia en su totalidad.

10

Campo de la invención

La invención se refiere a inhibidores novedosos de la fosfodiesterasa 1 (PDE1) útiles para el tratamiento de enfermedades o trastornos caracterizados por la alteración o el daño de determinadas vías mediadas por cGMP/PKG (por ejemplo, en tejido cardíaco o en músculo liso vascular). La invención se refiere, además, a una composición farmacéutica que comprende la misma y métodos de tratamiento de enfermedades cardiovasculares y trastornos relacionados, por ejemplo, enfermedades cardíacas congestivas, aterosclerosis, infartos de miocardio e ictus.

15

Antecedentes de la invención

20

La enfermedad cardíaca es una enfermedad crónica y progresiva que mata a más de 2,4 millones de estadounidenses cada año. Existen aproximadamente 500.000 casos nuevos de insuficiencia cardíaca al año, con una estimación de 5 millones de pacientes solo en los Estados Unidos que tienen esta enfermedad. Resulta probable que la intervención temprana sea más eficaz en la conservación de la función cardíaca. Resultaría más deseable prevenir, así como revertir, la remodelación morfológica, celular y molecular que se asocia a las enfermedades cardíacas. Algunos de los indicadores más importantes de riesgo cardíaco son la edad, los factores hereditarios, el peso, el hábito de fumar, la presión sanguínea, los antecedentes de práctica de ejercicio y la diabetes. Otros indicadores de riesgo cardíaco incluyen el perfil lipídico del sujeto, que normalmente se evalúa usando un análisis de sangre o cualquier otro biomarcador asociado a enfermedades cardíacas o hipertensión. Otros métodos para la evaluación del riesgo cardíaco incluyen, pero sin limitación, un ensayo de esfuerzo de ECG, un ensayo de esfuerzo con talio, un ECG, una exploración por tomografía computarizada, un ecocardiograma, un estudio de resonancia magnética nuclear, una arteriografía no invasiva e invasiva y un cateterismo cardíaco.

25

30

La hipertensión pulmonar (HP o HTP) es un aumento de la presión sanguínea en la arteria pulmonar, la vena pulmonar y/o los capilares pulmonares. Esta es una afección muy grave, que conduce potencialmente a disnea, mareo, desmayo, tolerancia al ejercicio disminuida, insuficiencia cardíaca, edema pulmonar y fallecimiento. Esta puede ser una de cinco grupos diferentes, clasificados por la Organización Mundial de la Salud en las categorías que se describen a continuación.

35

40 Grupo I de la OMS: hipertensión arterial pulmonar (HAP):

a. Idiopática (HAPI)

b. Familiar (HAPF)

c. Asociada a otras enfermedades (HAPA): enfermedad vascular del colágeno (por ejemplo, esclerodermia), cortocircuitos congénitos entre la circulación sistémica y pulmonar, hipertensión portal, infección por VIH, drogas, toxinas u otras enfermedades o trastornos.

45

d. Asociada a enfermedad venosa o capilar.

La hipertensión arterial pulmonar implica la vasoconstricción o el estrechamiento de los vasos sanguíneos conectados a y dentro de los pulmones. Esto hace que resulte más difícil que el corazón bombee la sangre a través de los pulmones, al igual que resulta más difícil que el agua fluya a través de un tubo estrecho en lugar de uno ancho. Con el paso del tiempo, los vasos sanguíneos afectados se vuelven más rígidos y gruesos, en un proceso conocido como fibrosis. Esto aumenta, además, la presión sanguínea dentro de los pulmones y afecta a su flujo sanguíneo. Además, la carga de trabajo aumentada del corazón causa el engrosamiento y agrandamiento del ventrículo derecho, haciendo que el corazón sea menos capaz de bombear la sangre a través de los pulmones, causando insuficiencia cardíaca derecha. A medida que disminuye el flujo de sangre a través de los pulmones, el lado izquierdo del corazón recibe menos sangre. Esta sangre también puede transportar menos oxígeno de lo normal. Por lo tanto, resulta cada vez más difícil que el lado izquierdo del corazón bombee para suministrar suficiente oxígeno al resto del cuerpo, especialmente durante la actividad física.

50

55

60

Grupo II de la OMS: hipertensión pulmonar asociada a enfermedad cardíaca izquierda:

a. Enfermedad auricular o ventricular

b. Enfermedad valvular (por ejemplo, estenosis mitral)

65

En la hipertensión pulmonar del Grupo II de la OMS, resulta posible que no haya ninguna obstrucción al flujo sanguíneo

en los pulmones. En cambio, las cavidades izquierdas no pueden bombear la sangre de manera eficaz desde el corazón hacia el cuerpo, lo que conduce a la acumulación de sangre en las venas que van desde los pulmones hasta las cavidades izquierdas (insuficiencia cardíaca congestiva o ICC). Esto causa edema pulmonar y derrames pleurales. La acumulación de fluido y el daño a los pulmones también pueden conducir a la hipoxia y la consiguiente vasoconstricción de las arterias pulmonares, de tal manera que la dolencia puede llegar a parecerse a la del Grupo I o III.

Grupo III de la OMS: hipertensión pulmonar asociada a enfermedades pulmonares y/o hipoxemia:

- 10 a. Enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), Enfermedad pulmonar intersticial (EPI)
- b. Síndrome de apneas durante el sueño, hipoventilación alveolar
- c. Exposición crónica a gran altitud
- d. Anomalías pulmonares del desarrollo

15 En la hipertensión pulmonar hipóxica (Grupo III de la OMS), los bajos niveles de oxígeno pueden causar vasoconstricción o estrechamiento de las arterias pulmonares. Esto conduce a una fisiopatología similar a la hipertensión arterial pulmonar.

Grupo IV de la OMS: hipertensión pulmonar debida a enfermedad trombotica y/o embólica crónica:

- 20 a. Embolia pulmonar en las arterias pulmonares proximales o distales
- b. Embolización de otra materia, tal como células tumorales o parásitos

25 En la hipertensión pulmonar tromboembólica crónica (Grupo IV de la OMS), los vasos sanguíneos están bloqueados o estrechados con coágulos de sangre. De nuevo, esto conduce a una fisiopatología similar a la hipertensión arterial pulmonar.

Grupo V de la OMS: varios

30 El tratamiento de la hipertensión pulmonar ha demostrado ser muy difícil. Los fármacos antihipertensores que funcionan mediante la dilatación de las arterias periféricas resultan con frecuencia ineficaces en la vasculatura pulmonar. Por ejemplo, los bloqueadores de los canales de calcio resultan eficaces solo en aproximadamente el 5 % de los pacientes con HAPI. La función ventricular izquierda a menudo se puede mejorar mediante el uso de diuréticos, betabloqueantes, inhibidores de ACE, etc. o mediante la reparación/el reemplazo de la válvula mitral o la válvula aórtica. En los casos en los que existe hipertensión arterial pulmonar, el tratamiento es más desafiante y puede incluir cambios en el estilo de vida, la digoxina, los diuréticos, los anticoagulantes orales y la terapia de oxígeno son convencionales, pero no son altamente eficaces. Los fármacos más nuevos que se dirigen a las arterias pulmonares incluyen antagonistas del receptor de endotelina (por ejemplo, bosentán, sitaxentán, ambrisentán), inhibidores de la fosfodiesterasa tipo 5 (por ejemplo, sildenafil, tadalafilo), derivados de prostaciclina (por ejemplo, epoprostenol, treprostínilo, iloprost, beraprost) y activadores solubles de guanilato ciclasa (sGC) (por ejemplo, cinaciguat y riociguat). Los procedimientos quirúrgicos para la HAP incluyen septostomía auricular para crear una comunicación entre las aurículas derecha e izquierda, aliviando de este modo la presión sobre el lado derecho del corazón, pero a costa de disminuir los niveles de oxígeno en sangre (hipoxia); trasplante de pulmón; y tromboendarterectomía pulmonar (TEP) para retirar coágulos grandes junto con el revestimiento de la arteria pulmonar. La insuficiencia cardíaca y el infarto de miocardio agudo son afecciones habituales y graves asociadas con frecuencia a la trombosis y/o acumulación de placa en las arterias coronarias.

50 La enfermedad o disfunción cardiovascular también puede estar asociada a enfermedades o trastornos que normalmente se considera que afectan al músculo esquelético. Una de tales enfermedades es la distrofia muscular de Duchenne (DMD), que es un trastorno que afecta principalmente al desarrollo del músculo esquelético, pero también puede dar como resultado una disfunción cardíaca y miocardiopatía. La DMD es una forma ligada al cromosoma X recesiva de distrofia muscular, que afecta a aproximadamente 1 de cada 3.600 niños, lo que da como resultado la degeneración muscular y el posterior fallecimiento. El trastorno es causado por una mutación en el gen de la distrofina, localizado en el cromosoma X humano, que codifica la proteína distrofina, un componente estructural importante dentro del tejido muscular que proporciona estabilidad estructural al complejo de distroglicanos (CDG) de la membrana celular. Aunque ambos sexos pueden portar la mutación, las mujeres rara vez presentan signos de la enfermedad.

60 Los pacientes con DMD carecen de expresión de la proteína distrofina o expresan distrofina empalmada de manera inadecuada, como resultado de las mutaciones en el gen de la distrofina ligada al cromosoma X. De manera adicional, la pérdida de distrofina conduce a patologías graves del músculo esquelético, así como a miocardiopatía, que se manifiesta como insuficiencia cardíaca congestiva y arritmias. Se cree que la ausencia de una proteína distrofina funcional conduce a una expresión reducida y una localización errónea de las proteínas asociadas a la distrofina, incluyendo la sintasa de óxido nítrico (ON) neuronal (nNOS). La alteración de la señalización de la nNOS puede dar como resultado cansancio muscular y vasoconstricción simpática sin oposición durante el ejercicio, aumentando de este modo el daño inducido por la contracción en los músculos deficientes en distrofina. La pérdida de la señalización normal de nNOS durante el ejercicio es fundamental para la disfunción vascular propuesta como un mecanismo

patogénico importante en la DMD. La pérdida posterior de la función cardíaca a menudo conduce a insuficiencia cardíaca en pacientes con DMD.

5 En la actualidad, existe una gran necesidad insatisfecha de una manera eficaz de someter a tratamiento enfermedades y trastornos cardiovasculares (por ejemplo, enfermedad cardíaca congestiva) y enfermedades y trastornos que pueden dar como resultado disfunción cardíaca o miocardiopatía (por ejemplo, distrofia muscular de Duchenne). De manera urgente, se requieren compuestos, composiciones y métodos terapéuticos mejorados para el tratamiento de afecciones y disfunciones cardíacas.

10 Se han identificado once familias de fosfodiesterasas (PDE), pero se ha demostrado que solo las PDE de la Familia I, las fosfodiesterasas dependientes del Ca^{2+} -calmodulina (CaM-PDE), que se activan mediante el Ca^{2+} -calmodulina, median las vías de señalización de calcio y nucleótidos cíclicos (por ejemplo, cAMP y cGMP). Los tres genes de CaM-PDE conocidos, PDE1A, PDE1B y PDE1C, se expresan todos en el tejido del sistema nervioso central. El PDE1A se expresa en todo el cerebro con niveles superiores de expresión en las capas del hipocampo CA1 a CA3 y el cerebelo
15 y a un nivel bajo en el cuerpo estriado. El PDE1A también se expresa en el pulmón y el corazón. El PDE1B se expresa predominantemente en el cuerpo estriado, el giro dentado, la cintilla olfativa y el cerebelo y su expresión se correlaciona con regiones cerebrales que tienen altos niveles de inervación dopaminérgica. Aunque el PDE1B se expresa principalmente en el sistema nervioso central, también se detecta en el corazón, está presente en los neutrófilos y se ha demostrado que está implicado en las respuestas inflamatorias de estas células. El PDE1C se
20 expresa en el epitelio olfativo, las células granulares cerebelosas, el cuerpo estriado, el corazón y el músculo liso vascular. La PDE1C es una fosfodiesterasa importante en el miocito cardíaco humano.

De todas las familias de PDE, la principal actividad de PDE en el ventrículo cardíaco humano es la PDE1. En general, existe una gran abundancia de isoformas de PDE1 en: los miocitos cardíacos, las células endoteliales vasculares, las
25 células vasculares del músculo liso, los fibroblastos y las neuronas motoras. La regulación por incremento de la expresión de la fosfodiesterasa 1A se asocia al desarrollo de tolerancia al nitrato. Kim y col., *Circulation* 104(19):2338-2343 (2001). La fosfodiesterasa 1C de nucleótidos cíclicos promueve la proliferación de células del músculo liso arterial humano. Rybalkin y col., *Circ. Res.* 90(2): 151-157 (2002). El modelo de rata de isquemia-reperusión cardíaca también muestra un aumento en la actividad de PDE1. Kakkar y col., *can. J. Physiol. Pharmacol.* 80(1):59-66 (2002). La PDE1 estimulada por el Ca^{2+} /CaM, en particular, la PDE1A, ha demostrado estar implicada en la regulación de la hipertrofia patológica de cardiomiocitos. Millet y col., *Circ. Res.* 105(10):956-964 (2009). La hipertrofia cardíaca temprana inducida por la angiotensina II se acompaña de aumentos del 140 % en PDE1A en un modelo de insuficiencia cardíaca en ratas. Mokni y col., *PLoS. One.* 5(12):e14227 (2010). La inhibición de la fosfodiesterasa 1 aumenta la respuesta vasodilatadora pulmonar al óxido nítrico inhalado en corderos despiertos con hipertensión pulmonar aguda. Evgenov y col., *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 290(4):L723-L729 (2006). También se observa una fuerte regulación por incremento de la familia de PDE1 en las células del músculo liso de la arteria pulmonar en los pulmones con HAP idiopática humanos y los pulmones de modelos animales de HAP. Schermuly y col., *Circulation* 115(17):2331-2339 (2007). El PDE1A y 1C, hallados en los fibroblastos, se sabe que están regulados por incremento en la transición al "fenotipo sintético", que está conectado a la invasión del tejido cardíaco enfermo mediante células proinflamatorias que depositarán la matriz extracelular. El PDE1B2, que está presente en los neutrófilos, está regulado por incremento durante el proceso de diferenciación de macrófagos. Bender y col., *PNAS* 102(2):497-502 (2005). La diferenciación de los monocitos con los macrófagos, a su vez, está implicada en el componente inflamatorio de la enfermedad cardíaca, en particular, la aterosclerosis, la causa subyacente de aproximadamente el 80 % de todas las muertes cardíacas súbitas. Willerson y col., *Circulation* 109:II-2-II-10 (2004).
45

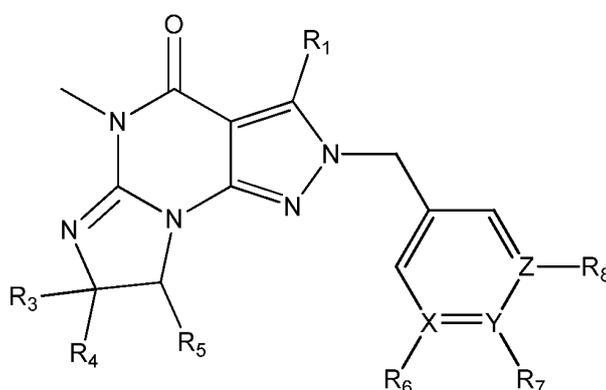
Las fosfodiesterasas de nucleótidos cíclicos regulan por disminución la señalización de cAMP y cGMP intracelular mediante la hidrólisis de estos nucleótidos cíclicos a sus respectivos 5'-monofosfatos (5'AMP y 5'GMP). El cGMP es un segundo mensajero intracelular central que regula numerosas funciones celulares. En el miocito cardíaco, el cGMP media los efectos del óxido nítrico y el péptido natriurético auricular, mientras que su homólogo, el cAMP, media
50 la señalización de catecolaminas. Cada nucleótido cíclico tiene una proteína cinasa dirigida primaria correspondiente, la PKA para cAMP y la PKG para cGMP. La estimulación de PKA se asocia a una contractilidad potenciada y puede estimular el crecimiento, mientras que la PKG actúa como un freno en el corazón, capaz de contrarrestar la estimulación contráctil de cAMP-PKA e inhibir la hipertrofia. De manera importante, la duración y la magnitud de estas cascadas de señalización están determinadas no solo por la generación de nucleótidos cíclicos, sino también por su hidrólisis catalizada por fosfodiesterasas (PDE). La regulación de la PDE es bastante potente, a menudo suprimiendo un aumento agudo en un nucleótido cíclico dado de vuelta a la línea de base en segundos. También se compartimenta dentro de la célula, de tal manera que las proteínas dirigidas específicas se puedan regular mediante el mismo nucleótido cíclico "genérico". En virtud de su modulación de cGMP en el miocito, la PDE1 participa en la regulación de la hipertrofia. (*Circ Res.* 2009, 6 de noviembre; 105(10):931).
60

Uno de los desafíos que se enfrenta en la actualidad en el campo es la falta de inhibidores específicos de PDE1. La presente invención busca superar este y otros desafíos en la técnica mediante la provisión de inhibidores específicos de PDE1. Aunque los documentos WO 2006/133261 y WO 2009/075784 proporcionan inhibidores específicos de PDE1, estos no desvelan los compuestos de la presente invención.
65

Sumario de la invención

La PDE1 está regulada por incremento en afecciones y enfermedades crónicas, tales como aterosclerosis, esfuerzo por carga de presión cardíaca e insuficiencia cardíaca, así como en respuesta a la exposición a largo plazo a nitratos. Los inhibidores de la PDE1 tienen un impacto relativamente pequeño en la función de reposo, pero más bien mantienen la capacidad de modular con potencia el tono contráctil agudo en las células estimuladas por agonistas vasoactivos. Tal regulación por incremento contribuye a la fisiopatología vascular y cardíaca y a la tolerancia a fármacos a las terapias de nitrato. Por lo tanto, sin quedar ligados a teoría alguna, se cree que los compuestos que modulan las vías mediadas por cGMP/PKG, tales como los inhibidores de la PDE1, resultan particularmente útiles para revertir la hipertrofia cardíaca. Los inhibidores de la PDE1 desvelados en el presente documento son inhibidores selectivos de PDE1 que tienen una capacidad limitada de penetrar la barrera hematoencefálica y, por lo tanto, se cree que tienen una actividad moduladora significativa (por ejemplo, potenciación de cGMP) en aquellas áreas del cuerpo fuera del sistema nervioso central donde las isoformas de PDE1 se localizan predominantemente: por ejemplo, el tejido cardíaco, vascular y pulmonar.

15 Por lo tanto, en el primer aspecto, la invención proporciona un compuesto de Fórmula I:



Fórmula I

20 en forma libre o de sal, en donde

(i) R₁ es alquilo C₁₋₄ (por ejemplo, metilo o etilo) o -NH(R₂), en donde R₂ es fenilo opcionalmente sustituido con halo (por ejemplo, flúor), por ejemplo, 4-fluorofenilo;

(ii) X, Y y Z son, de manera independiente, N o C;

25 (iii) R₃, R₄ y R₅ son, de manera independiente, H o alquilo C₁₋₄ (por ejemplo, metilo); o R₃ es H y R₄ y R₅, en conjunto, forman un puente de trimetileno (pref. en donde el R₄ y el R₅, en conjunto, tienen la configuración cis, por ejemplo, donde los carbonos que llevan R₄ y R₅ tienen las configuraciones R y S, respectivamente),

(iv) R₆, R₇ y R₈ son, de manera independiente:

30 H,
alquilo C₁₋₄ (por ejemplo, metilo),
pirid-2-ilo sustituido con hidroxilo o
-S(O)₂-NH₂;

35 (v) con la condición de que cuando X, Y y/o Z sean N, entonces R₆, R₇ y/o R₈, respectivamente, no estén presentes; y cuando X, Y y Z sean todos C, entonces al menos uno de R₆, R₇ o R₈ sea -S(O)₂-NH₂ o pirid-2-ilo sustituido con hidroxilo.

En una realización particular, la invención proporciona un compuesto de Fórmula I de la siguiente manera:

40 1.1 el compuesto de Fórmula I, en donde R₁ es alquilo C₁₋₄ (por ejemplo, metilo o etilo) o -NH(R₂) en donde R₂ es fenilo opcionalmente sustituido con halo (por ejemplo, flúor), por ejemplo, 4-fluorofenilo;

1.2 el compuesto de Fórmula I, en donde R₁ es alquilo C₁₋₄ (por ejemplo, metilo o etilo);

45 1.3 el compuesto de Fórmula I, en donde R₁ es -NH(R₂), en donde R₂ es fenilo opcionalmente sustituido con halo (por ejemplo, flúor);

1.4 el compuesto de Fórmula I, en donde R₁ es -NH(R₂), en donde R₂ es fenilo;

1.5 el compuesto de Fórmula I, en donde R₁ es -NH(R₂), en donde R₂ es fenilo sustituido con halo (por ejemplo, flúor), por ejemplo, 4-fluorofenilo;

50 1.6 el compuesto de Fórmula I o cualquiera de las Fórmulas 1.1-1.5, en donde X, Y y Z son, de manera independiente, N o C;

1.7 el compuesto de Fórmula I o cualquiera de las Fórmulas 1.1-1.5, en donde X, Y y Z son todos C;

1.8 el compuesto de Fórmula I o cualquiera de las Fórmulas 1.1-1.5, en donde al menos uno de X, Y y/o Z es N;

- 1.9 el compuesto de Fórmula I o cualquiera de las Fórmulas 1.1-1.5, en donde X es N;
 1.10 el compuesto de Fórmula I o cualquiera de las Fórmulas 1.1-1.5, en donde Z es N;
 1.11 el compuesto de Fórmula I o cualquiera de las Fórmulas 1.1-1.5, en donde Y es N;
 1.12 el compuesto de Fórmula I o cualquiera de las Fórmulas 1.1-1.5, en donde X y Z son N e Y es C;
 5 1.13 el compuesto de Fórmula I o cualquiera de las Fórmulas 1.1-1.12, en donde R₆, R₇ y R₈ son, de manera independiente:
- H,
 alquilo C₁₋₄ (por ejemplo, metilo),
 10 pirid-2-ilo sustituido con hidroxilo o
 -S(O)₂-NH₂;
- 1.14 el compuesto de Fórmula I o cualquiera de las Fórmulas 1.1-1.12, en donde uno o más de R₆, R₇ y R₈ son, de manera independiente, H;
 15 1.15 el compuesto de Fórmula I o cualquiera de las Fórmulas 1.1-1.12, en donde R₆, R₇ y R₈ son, de manera independiente, alquilo C₁₋₄ (por ejemplo, metilo);
 1.16 Fórmula 1.15, con la condición de que cuando R₆, R₇ y/o R₈ sean, de manera independiente, alquilo C₁₋₄ (por ejemplo, metilo), entonces X, Y y/o Z, respectivamente, sean C (o no N);
 1.17 el compuesto de Fórmula I o cualquiera de las Fórmulas 1.1-1.12, en donde R₆, R₇ y R₈ son, de manera independiente, H o alquilo C₁₋₄ (por ejemplo, metilo);
 20 1.18 el compuesto de Fórmula I o cualquiera de las Fórmulas 1.1-1.12, en donde R₆, R₇ y R₈ son, de manera independiente, pirid-2-ilo sustituido con hidroxilo;
 1.19 el compuesto de Fórmula I o cualquiera de las Fórmulas 1.1-1.12, en donde R₇ es pirid-2-ilo sustituido con hidroxilo (por ejemplo, 6-hidroxipirid-2-ilo);
 25 1.20 Fórmula 1.18 o 1.19, con la condición de que cuando R₆, R₇ y/o R₈ sean, de manera independiente, pirid-2-ilo sustituido con hidroxilo, entonces X, Y y/o Z, respectivamente, sean, de manera independiente, C (o no N);
 1.21 el compuesto de Fórmula I o cualquiera de las Fórmulas 1.1-1.12, en donde uno o más de R₆, R₇ y R₈ son, de manera independiente, -S(O)₂-NH₂;
 1.22 el compuesto de Fórmula I o 1.7, en donde al menos uno de R₆, R₇ y R₈ es -S(O)₂-NH₂ o pirid-2-ilo sustituido con hidroxilo;
 30 1.23 el compuesto de Fórmula I o 1.9, en donde R₆ no existe y R₇ y R₈ son H;
 1.24 el compuesto de Fórmula I o 1.10, en donde R₈ no existe y R₆ y R₇ son H;
 1.25 el compuesto de Fórmula I o 1.11, en donde R₇ no existe y R₆ y R₈ son H;
 1.26 el compuesto de Fórmula I o 1.12, en donde R₆ y R₈ no existen y R₇ es alquilo C₁₋₄ (por ejemplo, metilo);
 35 1.27 el compuesto de Fórmula I o 1.12, en donde R₆ y R₈ no existen y R₇ es metilo;
- 1.28 el compuesto de Fórmula I o cualquiera de las Fórmulas 1.1-1.27, en donde R₃, R₄ y R₅ son, de manera independiente, H o alquilo C₁₋₄; o R₃ es H y R₄ y R₅, en conjunto, forman un puente de trimetileno (pref. en donde el R₄ y el R₅, en conjunto, tienen la configuración cis, por ejemplo, donde los carbonos que llevan R₄ y R₅ tienen las configuraciones R y S, respectivamente);
 40 1.29 el compuesto de Fórmula I o cualquiera de las Fórmulas 1.1-1.27, en donde R₃, R₄ y R₅ son, de manera independiente, H o alquilo C₁₋₄;
 1.30 el compuesto de Fórmula I o cualquiera de las Fórmulas 1.1-1.27, en donde R₃ y R₄ son, de manera independiente, alquilo C₁₋₄ y R₅ es H;
 1.31 el compuesto de Fórmula I o cualquiera de las Fórmulas 1.1-1.27, en donde R₃ y R₄ son, ambos, metilo y R₅ es H;
 45 1.32 el compuesto de Fórmula I o cualquiera de las Fórmulas 1.1-1.27, en donde R₃ es H y R₄ y R₅, en conjunto, forman un puente de trimetileno (pref. en donde el R₄ y el R₅, en conjunto, tienen la configuración cis, por ejemplo, donde los carbonos que llevan R₄ y R₅ tienen las configuraciones R y S, respectivamente);
 1.33 el compuesto de Fórmula 1.32, en donde el R₄ y el R₅, en conjunto, tienen la configuración cis, por ejemplo, donde los carbonos que llevan R₄ y R₅ tienen las configuraciones R y S, respectivamente);
 50 1.34 el compuesto de Fórmula I, en donde:
- (i) R₁ es -N(R₂), en donde R₂ es fenilo opcionalmente sustituido con halo (por ejemplo, flúor), por ejemplo, 4-fluorofenilo;
 55 (ii) al menos uno de X, Y y Z es N;
 (iii) R₃, R₄ y R₅ son, de manera independiente, H o alquilo C₁₋₄; o R₃ es H y R₄ y R₅, en conjunto, forman un puente de trimetileno (pref. en donde el R₄ y el R₅, en conjunto, tienen la configuración cis, por ejemplo, donde los carbonos que llevan R₄ y R₅ tienen las configuraciones R y S, respectivamente),
 (iv) R₆, R₇ y R₈ son, de manera independiente, H o alquilo C₁₋₄ (por ejemplo, metilo);
 60
- 1.35 el compuesto de Fórmula I o 1.34, en donde R₃, R₄ y R₅ son, de manera independiente, H o alquilo C₁₋₄ (por ejemplo, metilo);
 1.36 el compuesto de Fórmula I o 1.34 o 1.35, en donde R₃ y R₄ son, de manera independiente, alquilo C₁₋₄ (por ejemplo, R₃ y R₄ son metilo) y R₅ es H;
 65 1.37 el compuesto de Fórmula I, en donde:

R₁ es -N(R₂), en donde R₂ es fenilo opcionalmente sustituido con halo (por ejemplo, flúor), por ejemplo, 4-fluorofenilo;

X y Z son N e Y es C;

R₇ es alquilo C₁₋₄ (por ejemplo, metilo);

5 R₃ y R₄ son alquilo C₁₋₄ (por ejemplo, metilo);

R₅ es H;

1.38 el compuesto de acuerdo con cualquiera de las Fórmulas anteriores, seleccionado del grupo que consiste en:

- 10 3-((4-fluorofenil)amino)-5,7,7-trimetil-2-((2-metilpirimidin-5-il)metil)-7,8-dihidro-2H-imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(5H)-ona;
 3-((4-fluorofenil)amino)-5,7,7-trimetil-2-(piridin-3-ilmetil)-7,8-dihidro-2H-imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(5H)-ona;
 15 3-((4-fluorofenil)amino)-5,7,7-trimetil-2-(piridin-4-ilmetil)-7,8-dihidro-2H-imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(5H)-ona;
 (6aR,9aS)-2-(4-(6-hidroxipiridin-2-il)bencil)-5-metil-3-(fenilamino)-5,6a,7,8,9,9a-hexahidrociclopenta[4,5]imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(2H)-ona;
 4-(((6aR,9aS)-5-metil-4-oxo-3-(fenilamino)-4,5,7,8,9,9a-hexahidrociclopenta[4,5]imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-2(6aH)-il)metil)bencenosulfonamida;
 20 3-((4-fluorofenil)amino)-5,7,7-trimetil-2-((6-metilpiridin-3-il)metil)-7,8-dihidro-2H-imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(5H)-ona;
 4-((3-((4-fluorofenil)amino)-5,7,7-trimetil-4-oxo-4,5,7,8-tetrahidro-2H-imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-2-il)metil)bencenosulfonamida;
 25 3-((4-fluorofenil)amino)-2-(4-(6-hidroxipiridin-2-il)bencil)-5,7,7-trimetil-7,8-dihidro-2H-imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(5H)-ona;
 2-(4-(6-hidroxipiridin-2-il)bencil)-3,5,7,7-tetrametil-7,8-dihidro-2H-imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(5H)-ona;
 3-etil-2-(4-(6-hidroxipiridin-2-il)bencil)-5,7,7-trimetil-7,8-dihidro-2H-imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(5H)-ona;

1.39 cualquiera de las Fórmulas anteriores en donde los compuestos inhiben la hidrólisis de cGMP mediada por fosfodiesterasa (por ejemplo, mediada por PDE1), por ejemplo, con una CI₅₀ de menos de 1 μM, preferentemente de menos de 75 nM, preferentemente de menos de 1 nM, en una evaluación de PDE de reactivo de partículas de afinidad con metal inmovilizado, por ejemplo, tal como se describe en el Ejemplo 11;

en forma libre o de sal, con la condición de que cuando X, Y y/o Z sean N, entonces R₆, R₇ y/o R₈, respectivamente, no estén presentes; y cuando X, Y y Z sean todos C, entonces al menos uno de R₆, R₇ o R₈ sea -S(O)₂-NH₂ o pirid-2-ilo sustituido con hidroxilo.

40 En el segundo aspecto, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende el compuesto de Fórmula I o cualquiera de 1.1-1.39, tal como se describe en el presente documento, en forma libre o de sal farmacéuticamente aceptable, en mezcla (o en combinación o asociación) con un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

45 El compuesto de Fórmula I o cualquiera de 1.1-1.39, tal como se describe en el presente documento, son inhibidores selectivos de PDE1 y, por lo tanto, resultan útiles para la regulación de cGMP/PKG en la hipertrofia cardíaca. Los estudios anteriores han demostrado que los aumentos en la señalización dependiente de ²⁺/CaM intracelular promueven la expresión de genes hipertróficos inadaptados en cardiomiocitos a través de diversos efectores, tales como la proteína fosfatasa calcineurina, la cinasa II dependiente del Ca²⁺/CaM (CaMKII). Sin desear quedar ligados a teoría alguna, los aumentos en la señalización dependiente de cGMP/PKG endógena pueden ser capaces de disminuir la hipertrofia cardíaca, mediante la supresión de la activación de Gq/11 y la normalización de la señalización de Ca²⁺. Mediante la activación de la PDE1, el Ca²⁺/CaM puede disminuir los niveles de cGMP y la actividad de PKG. A su vez, este proceso puede conducir a la hipertrofia cardíaca. De manera adicional, la regulación por incremento de la expresión del PDE1 sobre el esfuerzo neurohumoral o biomecánico durante la hipertrofia cardíaca puede potenciar, además, la actividad de PDE1 y atenuar la señalización de cGMP/PKG. Por consiguiente, sin desear quedar ligados a teoría alguna, se cree que la inhibición de PDE1A podría, por ejemplo, revertir o prevenir la atenuación de la señalización de cGMP/PKG. Tal como se ha analizado anteriormente, la PDE1B también está implicada en el componente inflamatorio de la enfermedad cardíaca (por ejemplo, la PDE1B2 está regulada por incremento durante el proceso de diferenciación de macrófagos, tal como se produce durante el avance de la enfermedad cardíaca). De manera similar, la PDE1C se induce en las células del músculo liso arterial humano del fenotipo sintético proliferativo. Por lo tanto, la administración de un inhibidor de la PDE1, tal como se describe en el presente documento, podría proporcionar un medio potencial para regular la hipertrofia cardíaca y, por extensión, proporcionar un tratamiento para diversas enfermedades y trastornos cardiovasculares.

65 Por lo tanto, en el tercer aspecto, la invención proporciona un método para el tratamiento o la profilaxis de una enfermedad o un trastorno que se puede mejorar mediante la modulación (por ejemplo, potenciación) de las vías de

señalización dependientes de cGMP/PKG (por ejemplo, en tejido cardíaco), por ejemplo, una enfermedad o trastorno cardiovascular, que comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad eficaz del compuesto de Fórmula I o cualquiera de las Fórmulas 1.1-1.39, tal como se describe en el presente documento, en forma libre o de sal farmacéuticamente aceptable.

5 La enfermedad o el trastorno cardiovascular se puede seleccionar de un grupo que consiste en: hipertrofia (por ejemplo, hipertrofia cardíaca), aterosclerosis, infarto de miocardio, insuficiencia cardíaca congestiva, angina, ictus, hipertensión, hipertensión esencial, hipertensión pulmonar, hipertensión de las arterias pulmonares, hipertensión pulmonar secundaria, hipertensión sistólica aislada, hipertensión asociada a diabetes, hipertensión asociada a aterosclerosis, hipertensión renovascular. En determinadas realizaciones, la enfermedad o el trastorno cardiovascular a someter a tratamiento también puede referirse a una señalización dependiente de cGMP/PKG alterada. En una realización particular, la invención proporciona un método para el tratamiento o la prevención del ictus, en donde el inhibidor de la PDE1, a través de su efecto sobre las células endoteliales de los capilares cerebrales, es capaz de promover un aumento del flujo sanguíneo cerebral.

15 En una realización adicional del tercer aspecto, la invención también proporciona un método para el tratamiento o la profilaxis de enfermedades o trastornos cardiovasculares que se asocian a una distrofia muscular (por ejemplo, distrofia muscular de Duchenne, Becker, de las cinturas escapulohumeral o pélvica, miotónica y de Emery-Dreifuss) que comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad eficaz del compuesto de Fórmula I o cualquiera de 1.1-1.39, tal como se describe en el presente documento, en forma libre o de sal farmacéuticamente aceptable. Tal como se ha observado anteriormente, La DMD es causada por la ausencia de una proteína distrofina funcional, lo que, a su vez, conduce a una expresión reducida y una localización errónea de las proteínas asociadas a la distrofina, tales como la sintasa de óxido nítrico (ON) neuronal. La alteración de la señalización de la nNOS puede dar como resultado cansancio muscular y vasoconstricción simpática sin oposición durante el ejercicio, aumentando de este modo el daño inducido por la contracción en los músculos deficientes en distrofina. Sin quedar ligados a teoría alguna, la pérdida de la señalización normal de nNOS durante el ejercicio puede ser fundamental para la disfunción vascular propuesta como un mecanismo patogénico importante en la DMD. Se contempla que, mediante la inhibición de las fosfodiesterasas (por ejemplo, PDE1), los compuestos descritos en el presente documento pueden eludir la señalización defectuosa de nNOS en el músculo esquelético y/o cardíaco distrófico; mejorando de este modo potencialmente los resultados cardíacos en pacientes con DMD.

20 En otra realización más, la invención proporciona el tratamiento de la insuficiencia renal, la fibrosis, las enfermedades o trastornos inflamatorios, la remodelación vascular y las enfermedades o trastornos del tejido conjuntivo (por ejemplo, el síndrome de Marfan), que comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad eficaz del compuesto de Fórmula I o cualquiera de las Fórmulas 1.1-1.39, tal como se describe en el presente documento, en forma libre o de sal farmacéuticamente aceptable.

25 Los compuestos de PDE1 de la invención útiles para el tratamiento o la profilaxis de enfermedades de acuerdo con los métodos anteriores se pueden usar como único agente terapéutico o se pueden usar en combinación con uno o más agentes terapéuticos diferentes útiles para el tratamiento de trastornos cardiovasculares. Tales agentes diferentes incluyen antagonistas del receptor de angiotensina II, inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (ECA), inhibidores de la endopeptidasa neutra (NEP o neprilisina) y/o inhibidores de la fosfodiesterasa 5 (PDE5).

30 Por lo tanto, en una realización particular, el inhibidor de la PDE1 de la invención se puede administrar en combinación con un antagonista del receptor de angiotensina II seleccionado de azilsartán, candesartán, eprosartán, irbesartán, losartán, olmesartán, olmesartán medoxomilo, saralasin, telmisartán y valsartán, en forma libre o de sal farmacéuticamente aceptable.

35 En otra realización más, el inhibidor de la PDE1 de la invención se puede administrar en combinación con un inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina (ECA) seleccionado del grupo que consiste en: captoprilo, enalaprilo, lisinoprilo, benazeprilo, ramiprilo, quinaprilo, perindoprilo, imidaprilo, trandolaprilo y cilazaprilo, en forma libre o de sal farmacéuticamente aceptable.

40 En otra realización particular más, el inhibidor de la PDE1 de la invención se puede administrar en combinación con un inhibidor de PDE5 seleccionado de avanafil, lodenafil, mirodenafil, tadalafil, vardenafil, udenafil y zaprinast, en forma libre o de sal farmacéuticamente aceptable.

45 En otra realización particular más, el inhibidor de la PDE1 de la invención se puede administrar en combinación con un inhibidor de la endopeptidasa neutra (NEP o neprilisina). La endopeptidasa neutra, también conocida como neprilisina o NEP (EC 3.4.24.11), es una metaloendoproteasa dependiente de zinc de membrana integral tipo II que escinde diversos sustratos peptídicos cortos. En los mamíferos, la NEP se expresa ampliamente, incluyendo en el riñón, el pulmón, las células endoteliales, las células vasculares del músculo liso, los miocitos cardíacos, los fibroblastos, los adipocitos y el cerebro. Entre sus dianas naturales se encuentran el péptido natriurético auricular (ANP) cardíaco, el péptido natriurético de tipo B (BNP), el péptido natriurético de tipo C (CNP), la angiotensina I (Ang-I), la angiotensina II (Ang-II), la bradiquinina (BK) y la endotelina (ET). La escisión de estos péptidos mediante la NEP da como resultado su inactivación, atenuando los efectos biológicos naturales de los péptidos.

El ANP, el BNP y el CNP son todos parte del sistema de péptidos natriuréticos (NP), que, junto con el sistema de renina-angiotensina, es uno de los principales componentes de la homeostasis de la presión sanguínea de los mamíferos. Aunque el sistema de renina-angiotensina es el principal responsable del aumento de la presión sanguínea (por ejemplo, al promover la vasoconstricción y la retención de líquidos), el sistema de péptidos natriuréticos es el principal responsable de la disminución de la presión sanguínea (por ejemplo, al promover la vasodilatación y la natriuresis). El ANP y el BNP son vasodilatadores potentes y promotores fuertes de la disminución de la reabsorción renal de sodio y agua de una manera que ahorra potasio. Estos efectos duales ejercen un poderoso efecto reductor de la presión sanguínea. El BNP y el CNP también ejercen un efecto antifibrótico y un efecto antihipertrófico en el corazón. El CNP comparte los efectos vasodilatadores del ANP/BNP, pero sin los efectos renales. Además, se ha demostrado que tanto la hipertensión como la obesidad están asociadas a niveles reducidos de ANP y BNP y se ha demostrado que una variante genética específica de ANP (rs5068), que aumenta los niveles de ANP, protege contra la hipertensión y el síndrome metabólico. Por tanto, el ANP, el BNP y el CNP desempeñan una función importante en la homeostasis de la presión sanguínea y la salud cardiovascular.

La inhibición de la NEP da como resultado un aumento en las semividas de ANP, BNP y CNP en circulación. Se espera que esto prolongue su disminución de la presión sanguínea y los efectos de mejora de la salud cardíaca. Los niveles de cAMP en orina están significativamente elevados después de la administración sistémica de inhibidores de la NEP.

La inhibición de la NEP también da como resultado niveles más altos de bradiquinina, angiotensina I, angiotensina II y endotelina. De manera importante, la endotelina y la angiotensina II son péptidos fuertemente prohipertensores. Por tanto, la inhibición de la NEP sola da como resultado tanto efectos vasodilatadores (de los NP) como efectos vasoconstrictores (del aumento de Ang-II y ET). Todos estos péptidos prohipertensores operan a través del enlace a receptores acoplados a la proteína G (GPCR). El principal contribuyente a este efecto vasoconstrictor es la angiotensina-II, que opera mediante el enlace a los receptores acoplados a la proteína G AT₁ y AT₂. Estos receptores ejercen sus efectos fisiológicos a través de la activación de cascadas de señalización de fosfolipasa C (PLC) y proteína cinasa C (PKC). La bradiquinina se inactiva en gran medida mediante la ECA y los inhibidores de la ECA causan congestión como efecto secundario importante, que no se observa con inhibidores de la NEP.

El ANP, el BNP y el CNP funcionan todos a través del segundo mensajero cGMP. El ANP y el BNP se enlazan a la guanilil ciclasa-A enlazada a membrana, mientras que el CNP se enlaza a la guanilil ciclasa B. Ambas enzimas aumentan el cGMP intracelular en respuesta al enlace al receptor. El aumento de la concentración de cGMP activa la proteína cinasa G (PKG) que es responsable de ejercer los efectos biológicos corriente adelante de los péptidos natriuréticos.

Se conocen varios inhibidores de la NEP, incluyendo candoxatrilo, candoxatrilato, omapatrilato, gempatrilato y sampatrilato. Se ha demostrado que el candoxatrilo produce un aumento dependiente de la dosis en los niveles en plasma de ANP y cGMP y, aunque resulta seguro, no produce un efecto estable reductor de la presión sanguínea. Se cree que esto se debe a los efectos de la inhibición de la NEP en la descomposición de BK, ET y Ang-II. Se ha demostrado que el tratamiento con candoxatrilo en pacientes con insuficiencia cardíaca aumenta significativamente los niveles de endotelina, anulando, por tanto, los efectos de la presión sanguínea causados por el aumento de ANP.

En contraste con el candoxatrilo y el candoxatrilato, el omapatrilato se considera un inhibidor de la vasopeptidasa (VPI), porque funciona en la misma medida como un inhibidor de la NEP y un inhibidor de la ECA (enzima convertidora de angiotensina). La ECA es la enzima responsable de convertir la Ang-I en Ang-II, que es la principal hormona prohipertensora del sistema de renina-angiotensina. Mediante la inhibición de la NEP y la ECA, se pensó que el aumento de la Ang-II causado por la inhibición de la NEP se negaría, dando como resultado un tratamiento antihipertensor altamente eficaz. Sin embargo, los estudios clínicos mostraron que el omapatrilato se asoció a una incidencia grave de angioedema (un efecto secundario conocido de los inhibidores de la ECA). Las investigaciones posteriores han indicado que esto se puede deber a la inhibición concomitante de la aminopeptidasa P (APP). La ECA, la APP y la NEP contribuyen a la descomposición de la bradiquinina, que es otro péptido antihipertensor, y la acumulación excesiva de bradiquinina como resultado de la inhibición simultánea de tres de sus vías de degradación puede ser un factor fuerte que conduce al angioedema.

Sin pretender quedar ligados a ninguna teoría particular, la combinación de un inhibidor de la PDE1 con un inhibidor selectivo de la NEP (no un VPI) debería dar cuenta de los efectos positivos completos de la inhibición de la NEP (aumento de la semivida de ANP, BNP y CNP), reforzada, además, por la potenciación de las cascadas de señalización de NP (mediadas por cGMP) causadas por la inhibición de la PDE1, sin los efectos negativos de la inhibición de la NEP que pueden conducir a una disminución de la eficacia.

Por lo tanto, en una realización particular, el inhibidor de la endopeptidasa neutra (NEP o neprilisina) útil para la invención es un inhibidor selectivo de la NEP, por ejemplo, con una selectividad de al menos 300 veces para la inhibición de la NEP sobre la inhibición de la ECA. En una realización adicional, los inhibidores de la NEP para su uso en la presente invención son inhibidores con una selectividad de al menos 100 veces para la inhibición de la NEP sobre la inhibición de la ECE (enzima convertidora de endotelina). En otra realización más, los inhibidores de la NEP para su uso en la presente invención son inhibidores con una selectividad de al menos 300 veces para la inhibición de

la NEP sobre la inhibición de la ECA y una selectividad de 100 veces para la inhibición de la NEP sobre la inhibición de la ECE.

5 En otra realización, los inhibidores de la NEP para su uso en la presente invención son los inhibidores de la NEP desvelados en las siguientes publicaciones: EP-1097719 B1, EP-509442A, US-4929641, EP-599444B, US-798684, *J. Med. Chem.* (1993) 3821, EP-136883, US-4722810, *Curr. Pharm. Design* (1996) 443, *J. Med. Chem.* (1993) 87, EP-830863, EP-733642, WO 9614293, WO 9415908, WO 9309101, WO 9109840, EP-519738, EP-690070, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* (1996) 65, EP-A-0274234, *Biochem. Biophys. Res. Com.* (1989) 58, *Perspect. Med. Chem.* (1993) 45 o EP-358398-B. El contenido de estas patentes y publicaciones se incorpora por la presente a modo de referencia en su totalidad en este documento.

15 En otra realización más, los inhibidores de la NEP útiles en la presente invención son los inhibidores de la NEP fosforamidón, tiorfán, candoxatrilo, candoxatrilo o el compuesto del número de Chemical Abstract Service (CAS) 115406-23-0.

En otra realización más, los inhibidores de la NEP útiles en la presente invención son los inhibidores de la NEP desvelados en el documento US 2006/0041014 A1, cuyo contenido se incorpora por la presente a modo de referencia en su totalidad en el presente documento.

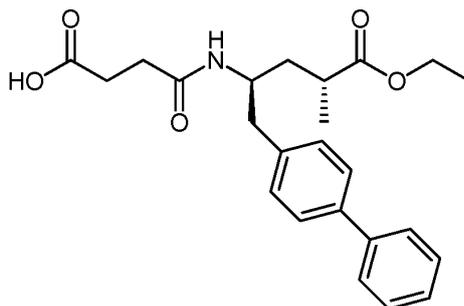
20 En otra realización, los inhibidores de la NEP útiles en la presente invención son los inhibidores de la NEP desvelados en la patente estadounidense 5.217.996, cuyo contenido se incorpora por la presente a modo de referencia en su totalidad en el presente documento.

25 En otra realización, los inhibidores de la NEP útiles en la presente invención son los inhibidores de la NEP desvelados en la patente estadounidense 8.513.244, cuyo contenido se incorpora por la presente a modo de referencia en su totalidad en el presente documento.

30 En otra realización, los inhibidores de la NEP útiles en la presente invención son los inhibidores de la NEP desvelados en la patente estadounidense 5.217.996, cuyo contenido se incorpora por la presente a modo de referencia en su totalidad en el presente documento.

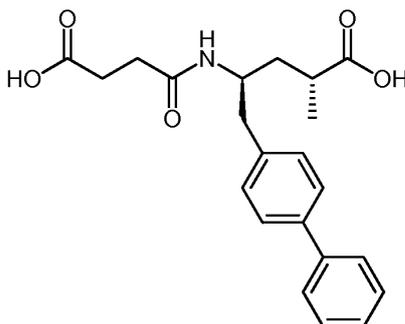
En otra realización, los inhibidores de la NEP útiles en la presente invención son los inhibidores de la NEP desvelados en la publicación de solicitud de patente estadounidense 2013/0330365, cuyo contenido se incorpora por la presente a modo de referencia en su totalidad en el presente documento.

35 En otra realización, el inhibidor de la NEP útil en la presente invención es el ácido 3-[[1S,3R]-1-bifenil-4ilmetil-3-etoxicarbonil-1-butilcarbamoil]propiónico,



40 también conocido como AHU-377, en forma libre o de sal o profármaco farmacéuticamente aceptable, del mismo, y en una realización preferida del mismo, en forma de sal de sodio.

45 En otra realización, el inhibidor de la NEP útil en la presente invención es el ácido [[1S,3R]-1-bifenil-4ilmetil-3-carboxi-1-butilcarbamoil]propiónico,



también conocido como LBQ-657, en forma libre o de éster, sal o profármaco farmacéuticamente aceptable.

- 5 En otra realización, el inhibidor de la NEP útil en la presente invención se selecciona de entre los siguientes: sampatrilat, fasidotril, Z13752A, MDL 100240, BMS 189921, LBQ657, AHU-377 o mixanprilo, en forma libre o de sal farmacéuticamente aceptable o en forma de profármaco del mismo.

En otra realización, el inhibidor de la NEP para su uso en la presente invención se selecciona de los siguientes:

- 10 SQ 28.603;
 N-[N-[(1S)-carboxi-3-fenilpropil]-(S)-fenilalanil]-(S)-isoserina;
 N-[N-[(1S)-carboxi-2-fenil]etil]-(S)-fenilalanil]-beta-alanina;
 N-[(2S)-mercaptometil-3-(2-metilfenil)-propionil]metionina;
 15 (ácido cis-4-[[[1-[2-carboxi-3-(2-metoxi-etoxi)propil]-ciclopentil]carbonil]amino]-ciclohexanocarboxílico);
 tiorfán; retro-tiorfán; fosforamidón; SQ 29072;
 etil éster de ácido N-(3-carboxi-1-oxopropil)-(4S)-p-fenilfenilmetil-4-amino-2R-metilbutanoico;
 ácido (S)-cis-4-[1-[2-(5-indaniloxicarbonil)-3-(2-metoxietoxi)propil]-1-ciclopentanocarboxamido]-1-ciclohexano-
 20 carboxílico;
 ácido 3-(1-[6-endo-hidroximetil-biciclo[2,2,1]heptano-2-exo-carbamoil]ciclopentil)-2-(2-metoxietil)propanoico;
 metil éster de N-(1-(3-(N-t-butoxicarbonil-(S)-prolilamino)-2(S)-t-butoxi-carbonilpropil)ciclopentanocarboxil)-O-
 bencil-(S)-serina;
 ácido 4-[[2-(mercaptometil)-1-oxo-3-fenilpropil]amino]benzoico;
 ácido 3-[1-(cis-4-carboxycarbonil-cis-3-butilciclohexil-r-1-carbamoil)ciclopentil]-2S-(2-metoxietoximetil)propanoico;
 25 N-((2S)-2-(4-bifenilmetil)-4-carboxi-5-fenoxivaleril)glicina;
 N-(1-(N-hidroxicarbamoilmetil)-1-ciclopentanocarboxil)-L-fenilalanina;
 ácido (S)-(2-bifenil-4-il)-1-(1H-tetrazol-5-il)etilamino)metilfosfónico;
 (S)-5-(N-(2-(fosfonometilamino)-3-(4-bifenil)propionil)-2-aminoetil)tetrazol;
 beta-alanina;
 30 3-[1,1'-bifenil]-4-il-N-[difenoxifosfinil]metil]-L-alanilo;
 N-(2-carboxi-4-tienil)-3-mercapto-2-bencilpropanamida;
 ácido 2-(2-mercaptometil-3-fenilpropionamido)tiazol-4-ilcarboxílico;
 (L)-(1-((2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)-metoxi)carbonil)-2-feniletil]-L-fenilalanil]-beta-alanina;
 N-[N-[(L)-[1-[(2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)-metoxi]carbonil]-2-feniletil]-L-fenilalanil]-(R)-alanina;
 35 N-[N-[(L)-1-carboxi-2-feniletil]-L-fenilalanil]-(R)-alanina;
 etil éster de N-[2-acetilmetil-3-(2-metil-fenil)propionil]-metionina;
 N-[2-mercaptometil-3-(2-metilfenil)propionil]-metionina;
 N-[(2S)-mercaptometil-3-(2-metilfenil)propanoil]-(S)-isoserina;
 N-(S)-[3-mercapto-2-(2-metilfenil)propionil]-(S)-2-metoxi-(R)-alanina;
 40 N-1-[[[(1S)-benciloxi-carbonil-3-fenilpropil]amino]ciclopentilcarbonil]-(S)-isoserina;
 N-1-[[[(1S)-carbonil-3-fenilpropil]amino]-ciclopentilcarbonil]-(S)-isoserina;
 1,1'-[ditiobis-[(2S)-(2-metilbencil)-1-oxo-3,1-propanodil]]-bis-(S)-isoserina;
 1,1'-[ditiobis-[(2S)-(2-metilbencil)-1-oxo-3,1-propanodil]]-bis-(S)-metionina;
 N-(3-fenil-2-(mercaptometil)-propionil)-(S)-4-(metilmercapto)metionina;
 45 ácido N-[2-acetilmetil-3-fenil-propionil]-3-aminobenzoico;
 ácido N-[2-mercaptometil-3-fenil-propionil]-3-aminobenzoico;
 N-1-(2-carboxi-4-fenilbutil)-ciclopentano-carboxil]-(S)-isoserina;
 etil éster de N-[1-(acetilmetil)ciclopentano-carboxil]-(S)-metionina;
 (3S)-[2-(acetilmetil)-3-fenil-propionil]amino-épsilon-caprolactama;
 50 etil éster de N-(2-acetilmetil-3-(2-metilfenil)propionil)-metionina;

en forma libre o de sal farmacéuticamente aceptable.

En otro aspecto, la invención proporciona lo siguiente:

(i) el compuesto de Fórmula I o cualquiera de 1.1-1.39, tal como se describe en el presente documento, en forma libre o de sal farmacéuticamente aceptable, para su uso en cualquiera de los métodos o en el tratamiento o la profilaxis de cualquier enfermedad o trastorno, tal como se expone en el presente documento,

(ii) una combinación, tal como se ha descrito anteriormente en el presente documento, que comprende un inhibidor de la PDE1 de la invención, por ejemplo, el compuesto de Fórmula I o cualquiera de 1.1-1.39, tal como se describe en el presente documento, en forma libre o de sal farmacéuticamente aceptable, y un segundo agente terapéutico útil para el tratamiento de trastornos cardiovasculares, por ejemplo, seleccionado de antagonista del receptor de la angiotensina II, inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina (ECA), inhibidor de la endopeptidasa neutra (NEP o neprilisina) y/o inhibidor de la fosfodiesterasa 5 (PDE5), en forma libre o de sal farmacéuticamente aceptable;

(iii) uso del compuesto de Fórmula I o cualquiera de 1.1-1.39, en forma libre o de sal farmacéuticamente aceptable, o la combinación descrita en el presente documento, (en la fabricación de un medicamento) para el tratamiento o la profilaxis de cualquier enfermedad o afección, tal como se expone en el presente documento,

(iv) el compuesto de Fórmula I o cualquiera de 1.1-1.39, en forma libre o de sal farmacéuticamente aceptable, la combinación descrita en el presente documento o la composición farmacéutica de la invención, tal como se ha descrito anteriormente en el presente documento, para su uso en el tratamiento o la profilaxis de cualquier enfermedad o afección, tal como se expone en el presente documento.

20 Descripción detallada de la invención

Si no se especifica de otra manera o resulta evidente a partir del contexto, los siguientes términos y expresiones en el presente documento tienen los siguientes significados:

(a) "alquilo", tal como se usa en el presente documento, es un resto hidrocarburo saturado o insaturado, preferentemente saturado, que tiene preferentemente de uno a seis átomos de carbono, en alguna realización, de uno a cuatro átomos de carbono, que puede ser lineal o ramificado y puede estar opcionalmente mono-, di- o trisustituido, por ejemplo, con halógeno (por ejemplo, cloro o flúor) o hidroxilo.

La expresión "opcionalmente sustituido con" pretende ser sustituido con un sustituyente o no sustituido. En una realización, la invención está sustituida. En otra realización, la invención está no sustituida.

Los compuestos de la invención, por ejemplo, el compuesto de Fórmula I o cualquiera de las Fórmulas 1.1-1.39, tal como se describe en el presente documento, pueden existir en forma libre o de sal, por ejemplo, como sales de adición de ácido. En la presente memoria descriptiva, a menos que se indique de otra manera, se ha de entender que el lenguaje, tal como "compuestos de la invención", abarca los compuestos en cualquier forma, por ejemplo, forma libre o de sal de adición de ácido, o en los casos en los que los compuestos contienen sustituyentes ácidos, en forma de sal de adición de base. Los compuestos de la invención están destinados a su uso como productos farmacéuticos, por lo tanto, se prefieren las sales farmacéuticamente aceptables. Las sales que no son adecuadas para usos farmacéuticos pueden resultar útiles, por ejemplo, para el aislamiento o la purificación de compuestos libres de la invención o sus sales farmacéuticamente aceptables, por lo tanto, también se incluyen.

Los compuestos de la invención pueden existir, en algunos casos, en forma de profármacos. Una forma de profármaco es un compuesto que se convierte en el cuerpo en un compuesto de la invención. Por ejemplo, cuando los compuestos de la invención contienen sustituyentes de hidroxilo o carboxilo, estos sustituyentes pueden formar ésteres fisiológicamente hidrolizables y aceptables. Tal como se usa en el presente documento, la expresión "éster fisiológicamente hidrolizable y aceptable" significa ésteres de los compuestos de la invención que son hidrolizables en condiciones fisiológicas para producir ácidos (en el caso de los compuestos de la invención que tienen sustituyentes de hidroxilo) o alcoholes (en el caso de los compuestos de la invención que tienen sustituyentes de carboxilo) que son en sí fisiológicamente tolerables a las dosis a administrar. Por lo tanto, en donde el compuesto de la invención contiene un grupo hidroxilo, por ejemplo, compuesto-OH, el profármaco de acil éster de tal compuesto, es decir, compuesto-O-C(O)-alquilo C_{1-4} , se puede hidrolizar en el cuerpo para formar alcohol fisiológicamente hidrolizable (compuesto-OH), por un lado, y ácido, por el otro (por ejemplo, HOC(O)-alquilo C_{1-4}). Como alternativa, en donde el compuesto de la invención contiene un ácido carboxílico, por ejemplo, compuesto-C(O)OH, el profármaco de éster de ácido de tal compuesto, compuesto-C(O)O-alquilo C_{1-4} , se puede hidrolizar para formar el compuesto-C(O)OH y HO-alquilo C_{1-4} . Tal como se apreciará, la expresión abarca, por tanto, formas de profármacos farmacéuticos convencionales.

Los compuestos de la invención incluyen sus enantiómeros, diastereómeros y racematos, así como sus polimorfos, hidratos, solvatos y complejos. Algunos compuestos individuales dentro del alcance de la presente invención pueden contener enlaces dobles. Las representaciones de los enlaces dobles en la presente invención pretenden incluir tanto el isómero E como el Z del enlace doble. Además, algunos compuestos dentro del alcance de la presente invención pueden contener uno o más centros asimétricos. La presente invención incluye el uso de cualquiera de los estereoisómeros ópticamente puros, así como cualquier combinación de estereoisómeros.

También se pretende que los compuestos de la invención abarquen sus isótopos estables e inestables. Los isótopos estables son isótopos no radiactivos que contienen un neutrón adicional en comparación con los abundantes núclidos

de la misma especie (es decir, elemento). Se espera que se retenga la actividad de los compuestos que comprenden tales isótopos y tales compuestos también tengan utilidad para la medición de la farmacocinética de los análogos no isotópicos. Por ejemplo, el átomo de hidrógeno en una determinada posición en los compuestos de la invención se puede reemplazar con deuterio (un isótopo estable que no es radiactivo). Los ejemplos de isótopos estables conocidos incluyen, pero sin limitación, deuterio, ^{13}C , ^{15}N , ^{18}O . Como alternativa, los isótopos inestables, que son isótopos radiactivos que contienen neutrones adicionales en comparación con los abundantes núclidos de la misma especie (es decir, elemento), por ejemplo, ^{123}I , ^{131}I , ^{125}I , ^{11}C , ^{18}F , pueden reemplazar las especies abundantes correspondientes de I, C y F. Otro ejemplo de isótopo útil del compuesto de la invención es el isótopo ^{11}C . Estos radioisótopos resultan útiles para estudios de diagnóstico por imagen radiográfica y/o farmacocinéticos de los compuestos de la invención.

Los puntos de fusión no están corregidos y (dec) indica descomposición. Las temperaturas se dan en grados Celsius ($^{\circ}\text{C}$); a menos que se indique de otra manera, las operaciones se llevan a cabo a temperatura ambiente o ambiental, es decir, a una temperatura en el intervalo de 18-25 $^{\circ}\text{C}$. La cromatografía significa cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice; la cromatografía en capa fina (TLC) se lleva a cabo sobre placas de gel de sílice. Los datos de RMN están en los valores delta de los principales protones de diagnóstico, dados en partes por millón (ppm) con respecto al tetrametilsilano (TMS) como patrón interno. Se usan abreviaturas convencionales para la forma de las señales. Las constantes de acoplamiento (J) se dan en Hz. En los espectros de masas (EM), el ion principal de masa más baja se indica para moléculas donde la división de isótopos da como resultado picos espectrales de masas múltiples. Las composiciones de mezclas de disolventes se dan como porcentajes en volumen o relaciones en volumen. En los casos donde los espectros de RMN son complejos, solo se indican las señales de diagnóstico.

Métodos de uso de los compuestos de la invención

Los compuestos de la invención resultan útiles en el tratamiento de enfermedades caracterizadas por la alteración o el daño de las vías mediadas por cGMP/PKG, por ejemplo, como resultado del aumento de la expresión de PDE1 o de la disminución de la expresión de la actividad de cGMP/PKG debido a la inhibición o la reducción de los niveles de inductores de la síntesis de nucleótidos cíclicos, tales como la dopamina y el óxido nítrico (ON). Se cree que mediante la inhibición de PDE1A o PDE1C, por ejemplo, esta acción podría revertir o prevenir la atenuación de la señalización de cGMP/PKG (por ejemplo, potenciar el cGMP) y que esta acción podría modular la hipertrofia cardíaca. Por lo tanto, la administración o el uso del inhibidor de la PDE1, tal como se describe en el presente documento, por ejemplo, un compuesto de Fórmula 1.1-1.39, tal como se describe en el presente documento, en forma libre o de sal farmacéuticamente aceptable, podría proporcionar un medio potencial para regular la hipertrofia cardíaca (por ejemplo, prevenir y/o revertir la hipertrofia cardíaca) y, en determinadas realizaciones, proporcionar un tratamiento para diversas enfermedades y trastornos cardiovasculares.

Los inhibidores de la PDE1 de la presente invención, en general, son selectivos para PDE1 (en general, interacciones inespecíficas de >10 veces, más preferentemente >25 veces, todavía más preferentemente >100 veces la afinidad con la PDE1) presentan una buena disponibilidad oral en plasma con una penetración cerebral muy mínima en ratones. La relación de sangre/plasma en ratones a los que se administraron los inhibidores de la PDE1 de la presente invención es preferentemente menor de 0,4, más preferentemente menor de 0,2, más preferentemente menor de o igual a 0,1.

El inhibidor de la PDE1 de la invención (es decir, la Fórmula I, tal como se ha descrito anteriormente en el presente documento) se puede usar en una terapia de combinación en donde el inhibidor de la PDE1 se puede administrar de manera simultánea, por separado o en secuencias con otro agente activo. Por lo tanto, la combinación puede ser una combinación libre o una combinación fija.

La expresión "de manera simultánea", cuando se refiere a un uso terapéutico, significa la administración de dos o más principios activos al mismo tiempo o aproximadamente el mismo tiempo por la misma vía de administración.

La expresión "por separado", cuando se refiere a un uso terapéutico, significa la administración de dos o más principios activos al mismo tiempo o aproximadamente el mismo tiempo por diferentes vías de administración.

Las dosificaciones de un compuesto de la invención en combinación con otro agente activo pueden ser iguales o menores que la dosificación aprobada para el fármaco, la dosificación de ensayo clínico o de literatura o la dosificación usada para el fármaco como monoterapia. La cantidad de dosificación resultará evidente para un experto en la materia.

Las enfermedades y los trastornos que se pueden prevenir o mejorar mediante la potenciación de la señalización de cGMP/PKG (por ejemplo, enfermedades cardiovasculares), por ejemplo, usando el compuesto de la invención, tal como se describe en el presente documento, incluyen, pero sin limitación: hipertrofia (por ejemplo, hipertrofia cardíaca), aterosclerosis, infarto de miocardio, insuficiencia cardíaca congestiva, angina, ictus, hipertensión, hipertensión esencial, hipertensión pulmonar, hipertensión de las arterias pulmonares, hipertensión pulmonar secundaria, hipertensión sistólica aislada, hipertensión asociada a diabetes, hipertensión asociada a aterosclerosis, hipertensión renovascular, insuficiencia renal, fibrosis, una enfermedad o un trastorno inflamatorio, remodelación vascular y una enfermedad o un trastorno del tejido conjuntivo (por ejemplo, síndrome de Marfan).

En una realización, los compuestos de la invención, tal como se describen en el presente documento, resultan útiles

en el tratamiento o la prevención del ictus mediante el tratamiento o la prevención de ataques isquémicos transitorios (AIT). Sin desear quedar ligados a teoría alguna, se cree que los compuestos de la invención pueden prevenir o someter a tratamiento el riesgo de ataques isquémicos transitorios mediante el aumento, en realidad, de la cantidad y/o concentración del flujo sanguíneo al cerebro. Se contempla que los compuestos, tal como se describen en el presente documento, podrían aumentar el flujo sanguíneo al cerebro sin un paso significativo a través de la barrera hematoencefálica.

En otra realización, la invención proporciona, además, el uso de los compuestos de la invención para el tratamiento o la prevención de las enfermedades o los trastornos siguientes: distrofia muscular de Duchenne, distrofia muscular de Becker, distrofia muscular de las cinturas escapulohumeral o pélvica, distrofia miotónica y distrofia muscular de Emery-Dreifuss. En una realización, los compuestos de la invención resultan útiles para someter a tratamiento la disfunción cardíaca asociada a los tipos de distrofia muscular mencionados anteriormente. En otra realización, los compuestos de la invención pueden potencialmente reducir o revertir la hipertrofia cardíaca que puede estar asociada a estos tipos de distrofia muscular mencionados anteriormente.

El "inhibidor de la PDE1", tal como se usa en el presente documento, describe un compuesto de Fórmula I o cualquiera de las Fórmulas 1.1-1.39 que inhibe de manera selectiva la hidrólisis mediada por la fosfodiesterasa (por ejemplo, mediada por la PDE1, en especial, mediada por la PDE1B) del cGMP, por ejemplo, con una CI_{50} de menos de 1 μ M, preferentemente de menos de 75 nM, preferentemente de menos de 1 nM, en una evaluación de PDE de reactivo de partículas de afinidad con metal inmovilizado, tal como se describe de manera similar se describe en el Ejemplo 1.

La expresión "compuestos de la invención" o "inhibidores de la PDE 1 de la invención", o expresiones similares, abarca cualquiera y todos los compuestos desvelados con el presente documento, por ejemplo, un compuesto de Fórmula I o cualquiera de las Fórmulas 1.1-1.39, en forma libre o de sal.

Las expresiones "tratamiento" y "someter a tratamiento" deben entenderse, por consiguiente, como que abarcan el tratamiento o la mejora de los síntomas de las enfermedades, así como el tratamiento de la causa de la enfermedad.

En los métodos de tratamiento, se pretende que la expresión "cantidad eficaz" abarque una cantidad terapéuticamente eficaz para someter a tratamiento una enfermedad o un trastorno específicos.

El término "paciente" incluye pacientes humanos o no humanos (es decir, animales). En una realización particular, la invención abarca tanto a pacientes humanos como a no humanos. En otra realización, la invención abarca pacientes no humanos. En otra realización, el término abarca pacientes humanos.

La expresión "que comprende/n", tal como se usa en la presente divulgación, pretende ser de final abierto y no excluye elementos o etapas de método adicionales y no citados.

Los compuestos de la invención, por ejemplo, los compuestos de Fórmula I o cualquiera de las Fórmulas 1.1-1.39, tal como se han descrito anteriormente en el presente documento, en forma libre o de sal farmacéuticamente aceptable, se pueden usar como único agente terapéutico, pero también se pueden usar en combinación o para la administración conjunta con otros agentes activos.

Las dosificaciones empleadas en la práctica de la presente invención, por supuesto, variarán dependiendo, por ejemplo, de la enfermedad o afección particular a someter a tratamiento, el compuesto particular usado, el modo de administración y la terapia deseada. Los compuestos se pueden administrar por cualquier vía adecuada, incluyendo vía oral, parenteral, transdérmica o por inhalación, pero preferentemente se administran por vía oral. En general, se indica que se obtienen resultados satisfactorios, por ejemplo, para el tratamiento de enfermedades, tal como se han expuesto anteriormente en el presente documento, sobre la administración oral a dosificaciones del orden de aproximadamente 0,01 a 2,0 mg/kg. En mamíferos más grandes, por ejemplo, seres humanos, una dosificación diaria indicada para la administración oral estará, por consiguiente, en el intervalo de aproximadamente 0,75 a 300 mg, administrada convenientemente de una vez o en dosis divididas de 2 a 4 veces, a diario o en forma de liberación sostenida. Las formas de dosificación unitarias para la administración oral, por tanto, por ejemplo, pueden comprender de aproximadamente 0,2 a 75 o 150 mg o 300 mg, por ejemplo, de aproximadamente 0,2 o 2,0 a 10, 25, 50, 75, 100, 150, 200 o 300 mg del compuesto desvelado en el presente documento, junto con un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable para el mismo.

Las composiciones farmacéuticas que comprenden compuestos de la invención se pueden preparar usando diluyentes o excipientes convencionales y técnicas conocidas en la técnica galénica. Por tanto, las formas de dosificación orales pueden incluir comprimidos, cápsulas, soluciones, suspensiones y similares.

Métodos de preparación de los compuestos de la invención

Los compuestos de la invención y sus sales farmacéuticamente aceptables se pueden preparar usando los métodos descritos y ejemplificados en el presente documento y/o mediante métodos similares a los mismos y/o mediante métodos conocidos en la técnica química. Tales métodos incluyen, pero sin limitación, aquellos descritos a

continuación. Si no están disponibles en el mercado, los materiales de partida para estos procesos se pueden preparar mediante procedimientos, que se seleccionan de la técnica química usando técnicas que son similares o análogas a la síntesis de compuestos conocidos.

5 Se pueden preparar diversos inhibidores de la NEP y materiales de partida para los mismos usando los métodos descritos en los documentos US 2006-0041014 A1, EP 1097719 A1, US 8.513.244 y US 2013-0330365 A1. Todas las referencias citadas en el presente documento se incorporan por la presente a modo de referencia en su totalidad.

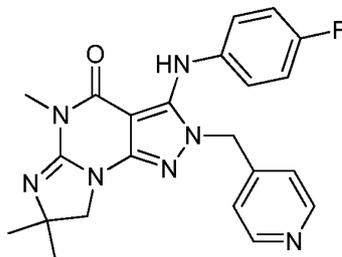
10 Se pueden preparar diversos materiales de partida y/o compuestos de la invención usando los métodos descritos en los documentos WO 2006/133261 y WO 2009/075784. Todas las referencias citadas en el presente documento se incorporan por la presente a modo de referencia en su totalidad.

Términos/expresiones y abreviaturas:

15 DMF = N,N-dimetilformamida,
MeOH = metanol,
THF = tetrahidrofurano,
equiv. = equivalente/s,
h = hora/s,
20 HPLC = cromatografía líquida de alto rendimiento,
LiHMDS = bis(trimetilsilil)amida de litio,
NMP = 1-metil-2-pirrolidiona,
Pd₂(dba)₃ = tris[dibencilidenoacetona]dipaladio(0),
TFA = ácido trifluoroacético,
25 TFMSA = ácido trifluorometanosulfónico
XantPhos = 4,5-bis(difenilfosfino)-9,9-dimetilxanteno

Ejemplos

30 **EJEMPLO 1: 3-((4-fluorofenil)amino)-5,7,7-trimetil-2-(piridin-4-ilmetil)-7,8-dihidro-2H-imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(5H)-ona**



35 **(a) 2-(4-bromobencil)-7-(4-metoxibencil)-5-metil-2H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4,6(5H,7H)-diona**

Una suspensión de 7-(4-metoxibencil)-5-metil-2H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4,6(5H,7H)-diona (161 g, 562 mmol), 1-bromo-4-(bromometil)benceno (157 g, 628 mmol) y K₂CO₃ (93,2 g, 674 mmol) en DMF (800 ml) se agita a temperatura ambiente hasta que se completa la reacción. La mezcla de reacción se vierte en agua (5 l). Después de la filtración,
40 la torta del filtro se lava sucesivamente con agua y etanol y, a continuación, se seca al vacío para dar 226 g de producto (rendimiento: 88 %). EM (ESI) *m/z* 455,1 [M+H]⁺.

(b) 2-(4-bromobencil)-5-metil-2H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4,6(5H,7H)-diona

45 Se añade lentamente TFA (500 ml) a una suspensión de 2-(4-bromobencil)-7-(4-metoxibencil)-5-metil-2H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4,6(5H,7H)-diona (226 g, 496 mmol) en cloruro de metileno (320 ml) y, a continuación, se añade lentamente TFMSA (160 ml). La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante una noche. Se retiran los disolventes a presión reducida. El residuo obtenido se somete a tratamiento con agua (4 l) y acetato de etilo (2 l), se agita a temperatura ambiente durante 30 min y, a continuación, se filtra. La torta del filtro se lava por completo con
50 agua para eliminar los ácidos residuales, seguido de lavado con acetato de etilo. Los sólidos de color blanco obtenidos se secan en un horno calentado para dar 159 g de producto (rendimiento: 96 %). EM (ESI) *m/z* 335,0 [M+H]⁺.

(c) 6-cloro-5-metil-2-(4-bromobencil)-2H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4(5H)-ona

55 Se suspende 2-(4-bromobencil)-5-metil-2H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4,6(5H,7H)-diona (159 g, 475 mmol) en POCl₃ (300 ml) y, a continuación, se calienta lentamente hasta reflujo. Después de que la mezcla se someta a reflujo durante

60 h, se retira el POCl_3 a presión reducida. El residuo obtenido se disuelve en cloruro de metileno (5 l), se enfría hasta 0°C y, a continuación, se ajusta hasta un pH 8-9 con bicarbonato de sodio saturado. Después de la filtración, los sólidos obtenidos se lavan con agua dos veces y, a continuación, se secan al vacío para dar 157 g de producto (rendimiento: 94 %). EM (ESI) m/z 353,0 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

5

(d) 6-(1-hidroxi-2-metilpropan-2-ilamino)-5-metil-2-(4-bromobencil)-2H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4(5H)-ona

Una mezcla de 6-cloro-5-metil-2-(4-bromobencil)-2H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4(5H)-ona (157 g, 444 mmol) y 2-amino-2-metilpropan-1-ol (236 g, 2,65 mol) en NMP (1,3 l) se calienta a $120\text{-}125^\circ\text{C}$ durante 2 h y, a continuación, se vierte en agua fría. Después de la filtración, la torta del filtro se lava con agua dos veces y, a continuación, se seca al vacío para dar 134 g de producto (rendimiento: 74 %). EM (ESI) m/z 406,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

10

(e) 2-(4-bromobencil)-7,8-dihidro-5,7,7-trimetil-[2H]-imidazo-[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(5H)-ona

Se añade gota a gota cloruro de tionilo (67 ml, 922 mmol) a una solución de 6-(1-hidroxi-2-metilpropan-2-ilamino)-5-metil-2-(4-bromobencil)-2H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4(5H)-ona (134 g, 330 mmol) en DMF (800 ml). La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente hasta que se completa la reacción. La mezcla se vierte en agua fría y, a continuación, se ajusta hasta un pH 8-9 con solución acuosa de hidróxido de amonio. Después de la filtración, los sólidos obtenidos se lavan con agua y, a continuación, se secan al vacío para dar 118 g de producto (rendimiento: 92 %). EM (ESI) 388,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

15

20

(f) 2-(4-fenoxibencil)-7,8-dihidro-5,7,7-trimetil-[2H]-imidazo-[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(5H)-ona

Se añade 2-(4-bromobencil)-7,8-dihidro-5,7,7-trimetil-[2H]-imidazo-[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(5H)-ona (118 g, 304 mmol) a una suspensión de fenol (57 g, 606 mmol) y carbonato de cesio (200 g, 614 mmol) en NMP (900 ml), seguido de 2,2,6,6-tetrametilheptano-3,5-diona (7 ml, 33,5 mmol) y CuCl (15 g, 152 mmol). La mezcla de reacción se calienta a 120°C en atmósfera de argón durante 10 h. Tras la finalización de la reacción, la mezcla se diluye con agua (4 l) y, a continuación, se extrae con acetato de etilo. La fase orgánica combinada se evapora hasta sequedad. El producto en bruto obtenido se purifica mediante cromatografía en columna de gel de sílice para dar 103 g de producto (rendimiento: 84 %). EM (ESI) m/z 402,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

25

30

(g) 7,8-dihidro-5,7,7-trimetil-[2H]-imidazo-[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(5H)-ona

Se añade TFA (600 ml) a una suspensión de 2-(4-fenoxibencil)-7,8-dihidro-5,7,7-trimetil-[2H]-imidazo-[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(5H)-ona (103 g, 257 mmol) en cloruro de metileno (210 ml) para dar una solución de color castaño y, a continuación, se añade TFMSA (168 ml). La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente hasta que el material de partida desapareció. La mezcla se vierte en agua fría (3 l). Después de la filtración, la torta del filtro se lava con agua dos veces y, a continuación, se basifica con solución acuosa de hidróxido de amonio, seguido de la adición de acetato de etilo con agitación. Los sólidos precipitados se filtran, se lavan sucesivamente con agua tres veces, acetato de etilo dos veces y metanol una vez y, a continuación, se secan al vacío para dar 45 g de producto (rendimiento: 80 %). EM (ESI) m/z 220,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

35

40

(h) 7,8-dihidro-2-(4-metoxifenil)-5,7,7-trimetil-[2H]-imidazo-[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(5H)-ona

Una suspensión de 7,8-dihidro-5,7,7-trimetil-[2H]-imidazo-[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(5H)-ona (3 g, 13,68 mmol), 1-(clorometil)-4-metoxibenceno (1,99 ml, 14,37 mmol) y K_2CO_3 (3,78 g, 27,37 mmol) en DMF (50 ml) se agita a temperatura ambiente hasta que se completa la reacción. El disolvente se retira y el residuo se lava con agua tres veces (3 veces 70 ml) y, a continuación, se seca al vacío para dar 4,3 g de producto en bruto (rendimiento: 93 %), que se usa en la siguiente etapa sin purificación adicional. EM (ESI) m/z 340,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

45

50

(i) 7,8-dihidro-2-(4-metoxifenil)-3-cloro-5,7,7-trimetil-[2H]-imidazo-[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(5H)-ona

Se añade gota a gota LiHMDS 1,0 M (20 ml, 20 mmol) en THF a una solución de 7,8-dihidro-2-(4-metoxifenil)-5,7,7-trimetil-[2H]-imidazo-[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(5H)-ona (4,3 g, 12,67 mmol) y hexacloroetano (3,33 g, 13,94 mmol) en cloruro de metileno (100 ml) a 25°C . La mezcla de reacción se agita a 25°C durante 30 min y, a continuación, se inactiva con agua (150 ml). La fase de cloruro de metileno se separa y la fase acuosa se extrae con cloruro de metileno dos veces (2 veces 60 ml). La fase combinada de cloruro de metileno se lava con salmuera tres veces (3 veces 70 ml) y el cloruro de metileno se evapora hasta sequedad para dar 4,6 g de producto en bruto (rendimiento: 97 %), que se usa en la siguiente etapa sin purificación adicional. EM (ESI) m/z 374,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

55

60

(j) 7,8-dihidro-3-cloro-5,7,7-trimetil-[2H]-imidazo-[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(5H)-ona

A una suspensión de 7,8-dihidro-2-(4-metoxifenil)-3-cloro-5,7,7-trimetil-[2H]-imidazo-[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(5H)-ona (4,6 g, 12,31 mmol) en TFA (23 ml) se añade TFMSA (1,7 ml) lentamente. La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante una noche. Se retiran los disolventes a presión reducida. El residuo obtenido se somete a tratamiento con agua (100 ml) y, a continuación, se ajusta hasta un pH 8-9 con hidróxido de amonio al 28 %

65

(10 ml) a 0 °C. Después de la filtración, el filtrado se concentra hasta aproximadamente 15 ml y, a continuación, se extrae con metanol al 10 % en cloruro de metileno (5 veces 60 ml). La fase orgánica combinada se evapora hasta sequedad para dar 1,94 g de producto en bruto (rendimiento: 62 %), que se usa en la siguiente etapa sin purificación adicional. EM (ESI) m/z 254,1 [M+H]⁺.

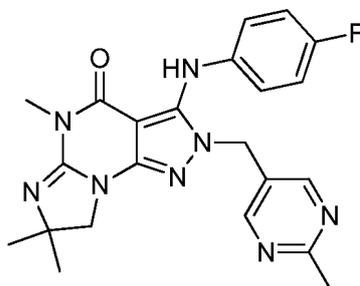
5 **(k) 7,8-dihidro-2-(piridin-4-il-metil)-3-cloro-5,7,7-trimetil-[2H]-imidazo-[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(5H)-ona**

10 Una suspensión de 7,8-dihidro-3-cloro-5,7,7-trimetil-[2H]-imidazo-[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(5H)-ona (200 mg, 0,788 mmol), 4-clorometil piridina (151 mg, 0,946 mmol) y K₂CO₃ (545 mg, 3,94 mmol) en DMF (7 ml) se agita a 95 °C hasta que se completa la reacción (aproximadamente 2 h). El disolvente se retira y el producto en bruto obtenido se purifica en un cartucho de óxido de aluminio neutro de 24 g, se eluye con un gradiente de acetato de etilo al 0 hasta el 100 % en hexanos durante 15 minutos, a continuación, se eluye con acetato de etilo a un caudal de 25 ml/min durante 30 minutos para dar 128 mg de producto (rendimiento: 47 %). EM (ESI) m/z 345,1 [M+H]⁺.

15 **(l) 7,8-dihidro-2-(piridin-4-il-metil)-3-(4-fluorofenilamino)-5,7,7-trimetil-[2H]-imidazo-[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(5H)-ona**

20 Una suspensión de 7,8-dihidro-2-(piridin-4-il-metil)-3-cloro-5,7,7-trimetil-[2H]-imidazo-[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(5H)-ona (120 mg, 0,348 mmol), 4-fluoro-bencenammina (36 µl, 0,383 mmol) y carbonato de potasio (96 mg, 0,696 mmol) en alcohol de *terc*-amilo (2,3 ml) se desgasifica con argón y, a continuación, se añaden Xantphos (8,1 mg, 0,0139 mmol) y Pd₂(dba)₃ (6,4 mg, 0,00696 mmol). La suspensión se desgasifica de nuevo y, a continuación, se calienta hasta 110 °C. La mezcla de reacción se agita a 110 °C en argón durante 8 h. Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla se filtra. El filtrado se evapora hasta sequedad a presión reducida. El residuo obtenido se somete a tratamiento con DMF y, a continuación, se filtra con un microfiltro. El filtrado se purifica con un sistema de HPLC semipreparativa usando un gradiente de acetonitrilo al 0-20 % en agua con ácido fórmico al 0,1 % durante 16 minutos para dar 84 mg del producto final en forma de una sal de formiato (pureza de HPLC: 98 %; rendimiento: 52 %). RMN ¹H (500 MHz, cloroformo-*d*) δ 8,50 (d, *J* = 5,0 Hz, 2H), 8,18 (s, 1H), 7,26 (s, 1H), 6,97 - 6,93 (m, 2H), 6,90 - 6,76 (m, 4H), 4,84 (s, 2H), 3,72 (s, 2H), 3,37 (s, 3H), 1,45 (s, 6H). EM (ESI) m/z 420,2 [M+H]⁺.

30 **EJEMPLO 2: 3-((4-fluorofenil)amino)-5,7,7-trimetil-2-((2-metilpirimidin-5-il)metil)-7,8-dihidro-2H-imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(5H)-ona**



35 **(a) 7,8-dihidro-2-(2-metil-pirimidin-5-il-metil)-5,7,7-trimetil-[2H]-imidazo-[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(5H)-ona**

40 Una suspensión de 7,8-dihidro-5,7,7-trimetil-[2H]-imidazo-[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(5H)-ona (200 mg, 0,92 mmol), 5-(clorometil)-2-metilpirimidina (136 mg, 0,84 mmol) y K₂CO₃ (350 mg, 2,56 mmol) en DMF (6 ml) se agita a temperatura ambiente hasta que se completa la reacción. La mezcla de reacción se filtra y la torta del filtro se enjuaga con DMF. El filtrado recogido se evapora hasta sequedad para dar 242 mg de producto en bruto (rendimiento en bruto: 78 %), que se usa en la siguiente etapa sin purificación adicional. EM (ESI) m/z 326,2 [M+H]⁺.

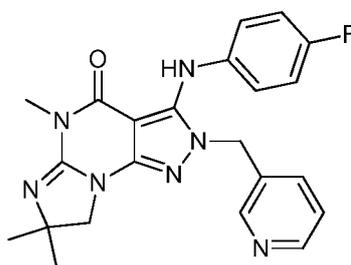
45 **(b) 7,8-dihidro-2-(2-metil-pirimidin-5-il-metil)-3-cloro-5,7,7-trimetil[2H]-imidazo-[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(5H)-ona**

50 Se añade gota a gota LiHMDS 1,0 M (1,14 ml, 1,14 mmol) en THF a una solución de 7,8-dihidro-2-(2-metil-pirimidin-5-il-metil)-5,7,7-trimetil-[2H]-imidazo-[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(5H)-ona (370 mg, 1,14 mmol) y hexacloroetano (807 mg, 3,42 mmol) en cloruro de metileno (4 ml) a 25 °C. La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante 30 min y, a continuación, se diluye con cloruro de metileno (100 ml). La mezcla se lava sucesivamente con solución saturada de NaHCO₃ (15 ml) y salmuera (15 ml) y, a continuación, se evapora hasta sequedad. El producto en bruto obtenido se purifica en un cartucho de óxido de aluminio básico de 24 g, se eluye con acetato de etilo a un caudal de 25 ml/min para dar 402 mg de producto (rendimiento: 95 %). EM (ESI) m/z 360,1 [M+H]⁺.

55 **(c) 7,8-dihidro-2-(2-metil-pirimidin-5-il-metil)-3-(4-fluorofenilamino)-5,7,7-trimetil-[2H]-imidazo-[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(5H)-ona**

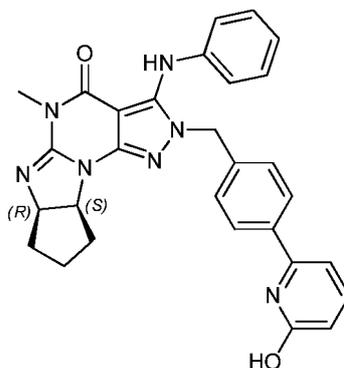
Una suspensión de 7,8-dihidro-2-(2-metil-pirimidin-5-il-metil)-3-cloro-5,7,7-trimetil-[2H]-imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(5H)-ona (350 mg, 0,973 mmol), 4-fluorobencenamina (110 μ l, 1,167 mmol) y carbonato de potasio (269 mg, 1,946 mmol) en alcohol de *tert*-amilo (3,0 ml) se desgasifica con argón y, a continuación, se añaden Xantphos (45 mg, 0,0778 mmol) y Pd₂(dba)₃ (36 mg, 0,039 mmol). La suspensión se desgasifica de nuevo y, a continuación, se calienta hasta 110 °C. La mezcla de reacción se agita a 110 °C en argón durante 24 h. Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla se filtra. El filtrado se evapora hasta sequedad a presión reducida. El residuo obtenido se somete a tratamiento con DMF y, a continuación, se filtra con un microfiltro. El filtrado se purifica con un sistema de HPLC semipreparativa usando un gradiente de acetonitrilo al 0-20 % en agua con ácido fórmico al 0,1 % durante 16 minutos para dar 356 mg del producto final en forma de una sal de formiato (pureza de HPLC: 97 %; rendimiento: 74 %). RMN ¹H (500 MHz, cloroformo-*d*) δ 8,34 (s, 2H), 7,17 (s, 1H), 7,05 - 7,01 (m, 2H), 6,97 - 6,94 (m, 2H), 4,84 (s, 2H), 3,75 (s, 2H), 3,37 (s, 3H), 2,70 (s, 3H), 1,48 (s, 6H). EM (ESI) *m/z* 435,2 [M+H]⁺.

EJEMPLO 3: 3-((4-fluorofenil)amino)-5,7,7-trimetil-2-(piridin-3-ilmetil)-7,8-dihidro-2H-imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(5H)-ona



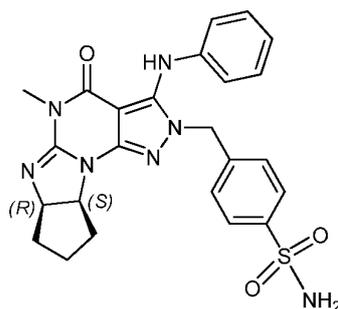
El método de síntesis es análogo al Ejemplo 2 en donde se añade 3-clorometil piridina en la Etapa (a) en lugar de 5-(clorometil)-2-metilpirimidina. El producto final se obtiene en forma de una sal de formiato (pureza de HPLC: 96 %; rendimiento: 43 %). RMN ¹H (500 MHz, cloroformo-*d*) δ 8,52 - 8,5 (m, 2H), 8,23 (s, 1H), 7,35 (d, *J* = 5,0 Hz, 1H), 7,22 - 7,19 (m, 1H), 7,01 - 6,936,98 (m, 2H), 6,94 - 6,91 (m, 2H), 4,89 (s, 2H), 3,78 (s, 2H), 3,42 (s, 3H), 1,50 (s, 6H). EM (ESI) *m/z* 420,2 [M+H]⁺.

EJEMPLO 4: (6aR,9aS)-2-(4-(6-hidroxipiridin-2-il)bencil)-5-metil-3-(fenilamino)-5,6a,7,8,9,9a-hexahidrociclopenta[4,5]imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(2H)-ona



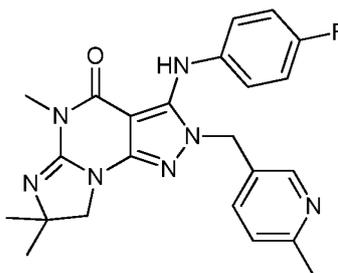
Se coloca (6aR,9aS)-2-(4-(6-fluoropiridin-2-il)bencil)-5-metil-3-(fenilamino)-5,6a,7,8,9,9a-hexahidrociclopenta[4,5]imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(2H)-ona (20 mg, 0,039 mmol) en un tubo de punto de fusión de vidrio y, a continuación, se calienta a 240 °C durante 90 min. Después de enfriarse hasta temperatura ambiente, el material se disuelve en DMF y, a continuación, se purifica con un sistema de HPLC semipreparativa usando un gradiente de acetonitrilo al 0-24 % en agua con ácido fórmico al 0,1 % durante 16 minutos para dar 12 mg del compuesto del título en forma de un sólido de color blanco (pureza de HPLC: 99 %; rendimiento: 60 %). RMN ¹H (400 MHz, cloroformo-*d*) δ 10,47 (s, 1H), 7,49 - 7,35 (m, 3H), 7,28 - 7,16 (m, 2H), 7,09 - 6,97 (m, 3H), 6,95 (s, 1H), 6,87 (d, *J* = 7,9 Hz, 2H), 6,46 (d, *J* = 9,1 Hz, 1H), 6,35 (d, *J* = 6,9 Hz, 1H), 4,89 (s, 2H), 4,78 - 4,61 (m, 2H), 3,32 (s, 3H), 2,21 (dd, *J* = 12,8, 6,1 Hz, 1H), 2,07 - 1,90 (m, 1H), 1,86 - 1,43 (m, 4H). EM (ESI) *m/z* 506,2 [M+H]⁺.

EJEMPLO 5: 4-(((6aR,9aS)-5-metil-4-oxo-3-(fenilamino)-4,5,7,8,9,9a-hexahidrociclopenta[4,5]imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-2(6aH)-il)metil)bencenosulfonamida



Una suspensión de (6aR,9aS)-5-metil-3-(fenilamino)-5,6a,7,8,9a-hexahidrociclopenta[4,5]imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(2H)-ona (100 mg, 0,31 mmol), 4-(bromometil)bencenosulfonamida (93 mg, 0,37 mmol) y K_2CO_3 (52 mg, 0,37 mmol) en DMF (3 ml) se agita a temperatura ambiente hasta que se completa la reacción. La mezcla de reacción se filtra y el filtrado recogido se purifica con un sistema de HPLC semipreparativa usando un gradiente de acetonitrilo al 0-35 % en agua con ácido fórmico al 0,1 % durante 16 minutos para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color blanquecino (33 mg; pureza de HPLC: 97 %; rendimiento: 22 %). RMN 1H (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7,80 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H), 7,32 - 7,26 (m, 2H), 7,16 - 7,11 (m, 1H), 7,08 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H), 7,02 (s, 1H), 6,93 (d, $J = 7,9$ Hz, 2H), 5,01 - 4,89 (m, 2H), 4,84 (a, 2H), 4,83 - 4,76 (m, 2H), 3,37 (s, 3H), 2,28 (dd, $J = 12,5, 6,1$ Hz, 1H), 2,18 - 1,72 (m, 4H), 1,68 - 1,55 (m, 1H). EM (ESI) m/z 492,2 $[M+H]^+$.

EJEMPLO 6: 3-((4-fluorofenil)amino)-5,7,7-trimetil-2-((6-metilpiridin-3-il)metil)-7,8-dihidro-2H-imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(5H)-ona



(a) 7-(4-metoxibencil)-5-metil-2-((6-metilpiridin-3-il)metil)-2H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4,6(5H,7H)-diona

Una suspensión de 7-(4-metoxibencil)-5-metil-2H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4,6(5H,7H)-diona (6,28 g, 22 mmol), 5-(clorometil)-2-metilpiridina (3,1 g, 22 mmol) y K_2CO_3 (15 g, 110 mmol) en DMF (30 ml) y CH_2Cl_2 (30 ml) se agita a temperatura ambiente hasta que se completa la reacción. La mezcla de reacción se diluye con agua (300 ml) y, a continuación, se extrae con CH_2Cl_2 (60 ml 3 veces). La fase orgánica combinada se lava con ácido cítrico al 5 % (40 ml 3 veces) y salmuera (40 ml 2 veces) y, a continuación, se evapora hasta sequedad a presión reducida para dar 9,5 g de producto en forma de un sólido de color blanco pálido. EM (ESI) m/z 392,2 $[M+H]^+$.

(b) 3-cloro-7-(4-metoxibencil)-5-metil-2-((6-metilpiridin-3-il)metil)-2H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4,6(5H,7H)-diona

Se añade gota a gota LiHMDS 1,0 M (8 ml, 8 mmol) en THF a una solución de 7-(4-metoxibencil)-5-metil-2-((6-metilpiridin-3-il)metil)-2H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4,6(5H,7H)-diona (783 mg, 2,0 mmol) y hexacloroetano (495 mg, 2,1 mmol) en cloruro de metileno (5 ml) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante una hora y, a continuación, se inactiva con agua (100 ml). La fase de cloruro de metileno se separa y la fase acuosa se extrae con cloruro de metileno (20 ml 3 veces). La fase combinada de cloruro de metileno se evapora hasta sequedad. El residuo se purifica en una columna de sílice usando un gradiente de metanol al 0 % hasta el 20 % en acetato de etilo para dar el producto (370 mg, 43 % de rendimiento). EM (ESI) m/z 426,1 $[M+H]^+$.

(c) 3-(4-fluorofenilamino)-7-(4-metoxibencil)-5-metil-2-((6-metilpiridin-3-il)metil)-2H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4,6(5H,7H)-diona

Una suspensión de 3-cloro-7-(4-metoxibencil)-5-metil-2-((6-metilpiridin-3-il)metil)-2H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4,6(5H,7H)-diona (210 mg, 0,49 mmol), 4-fluoro-bencenammina (108 mg, 0,97 mmol) y carbonato de potasio (202 mg, 1,46 mmol) en alcohol de *terc*-amilo (2,5 ml) se desgasifica con argón y, a continuación, se añaden Xantphos (14 mg, 0,024 mmol) y $Pd_2(dba)_3$ (12 mg, 0,013 mmol). La suspensión se desgasifica de nuevo y, a continuación, se calienta hasta 110 °C. La mezcla de reacción se agita a 110 °C en argón durante 24 h. Después de enfriarse hasta temperatura ambiente, la mezcla se diluye con agua (100 ml) y, a continuación, se extrae con CH_2Cl_2 (30 ml 3 veces). La fase orgánica combinada se evapora hasta sequedad a presión reducida para dar 250 mg de producto en bruto, que se

usa en la siguiente etapa sin purificación adicional. EM (ESI) m/z 501,3 [M+H]⁺.

(d) 3-(4-fluorofenilamino)-5-metil-2-((6-metilpiridin-3-il)metil)-2H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4,6(5H,7H)-diona

5 Se añade lentamente TFA (1 ml) a una suspensión de 3-(4-fluorofenilamino)-7-(4-metoxibencil)-5-metil-2-((6-metilpiridin-3-il)metil)-2H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4,6(5H,7H)-diona (250 mg) en bruto en cloruro de metileno (6 ml) y, a continuación, se añade lentamente TFMSA (0,5 ml). La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante una hora. Se retiran los disolventes a presión reducida. El residuo se disuelve en CH₂Cl₂ (10 ml) y, a continuación, se añade lentamente a una solución acuosa saturada fría de NaHCO₃ (30 ml), seguido de extracción con CH₂Cl₂ (15 ml
10 3 veces). La fase orgánica combinada se evapora hasta sequedad a presión reducida y se seca, además, en una bomba de vacío para dar 300 mg de producto en bruto, que se usa en la siguiente etapa sin purificación adicional. EM (ESI) m/z 381,1 [M+H]⁺.

(e) 6-cloro-3-(4-fluorofenilamino)-5-metil-2-((6-metilpiridin-3-il)metil)-2H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4(5H)-ona

15 Se suspende 3-(4-fluorofenilamino)-5-metil-2-((6-metilpiridin-3-il)metil)-2H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4,6(5H,7H)-diona (180 mg) en bruto en POCl₃ (10 ml) y, a continuación, se calienta a 180 °C en un reactor de microondas durante una hora. Después de enfriar la mezcla hasta temperatura ambiente, se retira el POCl₃ a presión reducida. El residuo obtenido se lava con hexanos y, a continuación, se disuelve en CH₂Cl₂:MeOH (10:1). La solución se lava con solución
20 acuosa saturada de NaHCO₃ y, a continuación, se extrae con CH₂Cl₂:MeOH (10:1) tres veces. La fase orgánica combinada se evapora hasta sequedad a presión reducida y, a continuación, se seca al vacío para dar 120 mg de producto en bruto en forma de un sólido de color gris, que se usa en la siguiente etapa sin purificación adicional. EM (ESI) m/z 399,1 [M+H]⁺.

(f) 3-(4-fluorofenilamino)-6-(1-hidroxi-2-metilpropan-2-ilamino)-5-metil-2-((6-metilpiridin-3-il)metil)-2H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4(5H)-ona

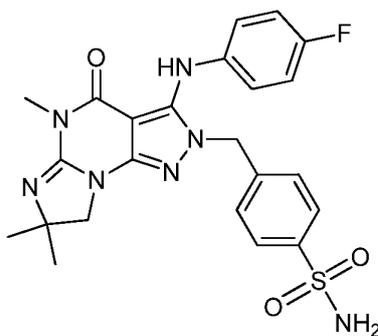
Una mezcla de 6-cloro-3-(4-fluorofenilamino)-5-metil-2-((6-metilpiridin-3-il)metil)-2H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4(5H)-ona (120 mg) en bruto, DIPEA (0,6 ml) y 2-amino-2-metilpropan-1-ol (300 mg, 3,4 mmol) en DMA (10 ml) en un vial sellado
30 se calienta a 105 °C durante 20 h. Después de enfriarse hasta temperatura ambiente, la mezcla se diluye con solución acuosa saturada de NaHCO₃ (100 ml) y, a continuación, se extrae con CH₂Cl₂ (30 ml 3 veces). La fase orgánica combinada se evapora hasta sequedad a presión reducida. El residuo se purifica con un sistema de HPLC semipreparativa usando un gradiente de acetonitrilo al 0 - 20 % en agua que contiene ácido fórmico al 0,1 % durante
35 16 min para dar 26 mg de producto. EM (ESI) m/z 452,2 [M+H]⁺.

(g) 3-((4-fluorofenil)amino)-5,7,7-trimetil-2-((6-metilpiridin-3-il)metil)-7,8-dihidro-2H-imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(5H)-ona

Se añade cloruro de tionilo (dos gotas) gota a gota a una solución de 3-(4-fluorofenilamino)-6-(1-hidroxi-2-metilpropan-2-ilamino)-5-metil-2-((6-metilpiridin-3-il)metil)-2H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4(5H)-ona (26 mg, 0,058 mmol) en DMF (0,5 ml) y CH₂Cl₂ (1 ml). La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante 30 min. Después de retirar los disolventes a presión reducida, el residuo se purifica con un sistema de HPLC semipreparativa usando un gradiente de acetonitrilo al 0 - 20 % en agua que contiene ácido fórmico al 0,1 % durante 16 min para dar 13,9 mg de producto en forma de un sólido blanquecino (56 % de rendimiento; pureza de HPLC: 95 %). RMN ¹H (500 MHz, cloroformo-*d*)
45 δ 8,12 (s, 1H), 7,29 - 7,25 (m, 1H), 7,06 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H), 7,00 (t, *J* = 8,4 Hz, 2H), 6,97 - 6,89 (m, 2H), 4,83 (s, 2H), 3,74 (s, 2H), 3,37 (s, 3H), 2,52 (s, 3H), 1,47 (s, 6H). EM (ESI) m/z 434,2 [M+H]⁺.

EJEMPLO 7: 4-((3-((4-fluorofenil)amino)-5,7,7-trimetil-4-oxo-4,5,7,8-tetrahidro-2H-imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-2-il)metil)bencenosulfonamida

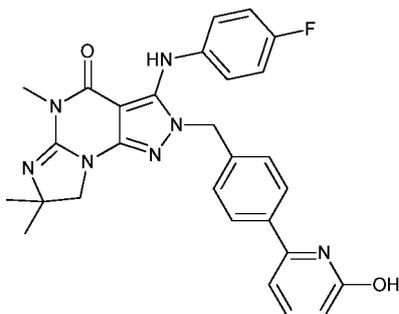
50 Una suspensión de 3-((4-fluorofenil)amino)-5,7,7-trimetil-7,8-dihidro-2H-imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(5H)-ona (132 mg, 0,50 mmol), 4-(bromometil)bencenosulfonamida (101 mg, 0,40 mmol) y Na₂CO₃ (43 mg, 0,41 mmol) en DMF (4 ml) se agita a temperatura ambiente durante una noche. La mezcla de reacción se filtra y el filtrado recogido



Una suspensión de 3-((4-fluorofenil)amino)-5,7,7-trimetil-7,8-dihidro-2H-imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(5H)-ona (132 mg, 0,50 mmol), 4-(bromometil)bencenosulfonamida (101 mg, 0,40 mmol) y Na₂CO₃ (43 mg, 0,41 mmol) en DMF (4 ml) se agita a temperatura ambiente durante una noche. La mezcla de reacción se filtra y el filtrado recogido

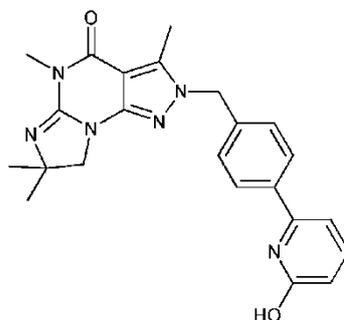
se purifica con un sistema de HPLC semipreparativa usando un gradiente de acetonitrilo al 0-20 % en agua con ácido fórmico al 1 % durante 16 minutos para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color blanquecino (8,8 mg; pureza de HPLC: 97 %). RMN ¹H (500 MHz, cloroformo-*d*) δ 7,81 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H), 7,09 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H), 6,97 (t, *J* = 8,4 Hz, 2H), 6,93 - 6,86 (m, 3H), 4,88 (s, 2H), 4,79 (a, 2H), 3,71 (s, 2H), 3,36 (s, 3H), 1,43 (s, 6H). EM (ESI) *m/z* 498,1 [M+H]⁺.

EJEMPLO 8: 3-((4-fluorofenil)amino)-2-(4-(6-hidroxipiridin-2-il)encil)-5,7,7-trimetil-7,8-dihidro-2H-imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(5H)-ona



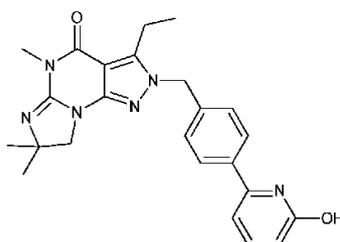
Se suspende 3-((4-fluorofenil)amino)-2-(4-(6-fluoropiridin-2-il)encil)-5,7,7-trimetil-7,8-dihidro-2H-imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(5H)-ona (350 mg, 0,68 mmol) en agua (3 ml), seguido de la adición de HCl concentrado (3 ml) y dioxano (6 ml). La mezcla se calienta a reflujo durante 24 h. Después de retirar los disolventes a presión reducida, el residuo se purifica con un sistema de HPLC semipreparativa usando un gradiente de acetonitrilo al 0-22 % en agua con ácido fórmico al 1 % durante 16 minutos para dar 240 mg del compuesto del título en forma de un sólido blanquecino (pureza de HPLC: 95 %; rendimiento: 69 %). RMN ¹H (400 MHz, cloroformo-*d*) δ 7,59 - 7,46 (m, 3H), 7,10 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 7,02 - 6,85 (m, 4H), 6,55 (dd, *J* = 9,1, 1,0 Hz, 1H), 6,47 (dd, *J* = 7,0, 1,0 Hz, 1H), 4,96 (s, 2H), 3,79 (s, 2H), 3,37 (s, 3H), 1,50 (s, 6H). EM (ESI) *m/z* 512,2 [M+H]⁺.

EJEMPLO 9: 2-(4-(6-hidroxipiridin-2-il)encil)-3,5,7,7-tetrametil-7,8-dihidro-2H-imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(5H)-ona



El método de síntesis es análogo al Ejemplo 8 en donde se usa 2-(4-(6-fluoropiridin-2-il)encil)-3,5,7,7-tetrametil-7,8-dihidro-2H-imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(5H)-ona como material de partida en lugar de 3-((4-fluorofenil)amino)-2-(4-(6-fluoropiridin-2-il)encil)-5,7,7-trimetil-7,8-dihidro-2H-imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(5H)-ona. El producto final se obtiene en forma de un sólido de color blanco (pureza de HPLC: 98 %; rendimiento: 65 %). RMN ¹H (500 MHz, cloroformo-*d*) δ 8,13 (s, 1H), 7,65 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 7,57 (dd, *J* = 9,1, 7,0 Hz, 1H), 7,29 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 6,61 (dd, *J* = 9,2, 1,0 Hz, 1H), 6,56 (dd, *J* = 7,1, 1,0 Hz, 1H), 5,28 (s, 2H), 3,82 (s, 2H), 3,50 (s, 3H), 2,57 (s, 3H), 1,51 (s, 6H). EM (ESI) *m/z* 417 [M+H]⁺.

EJEMPLO 10: 3-etil-2-(4-(6-hidroxipiridin-2-il)encil)-5,7,7-trimetil-7,8-dihidro-2H-imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(5H)-ona



Una solución de 3-etil-2-(4-(6-fluoropiridin-2-il)bencil)-5,7,7-trimetil-7,8-dihidro-2H-imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(5H)-ona (865 mg, 2,0 mmol) en HCl 1 N (3 ml) en un vial de microondas sellado se calienta en un reactor de microondas a 100 °C durante una hora. Después de enfriarse hasta temperatura ambiente, la mezcla se neutraliza hasta un pH 5 - 6 con NaOH 1 N, se diluye con 9 ml de DMF y, a continuación, se filtra. El filtrado se purifica con un sistema de HPLC semipreparativa usando un gradiente de acetonitrilo al 0-19 % en agua con ácido fórmico al 1 % durante 16 minutos para dar 150 mg del compuesto del título en forma de un sólido blanquecino (pureza de HPLC: 99 %; rendimiento: 17 %). EM (ESI) m/z 431 [M+H]⁺.

10 EJEMPLO 11: medición de la inhibición de la PDE1 *in vitro* usando el kit de ensayo de fosfodiesterasa de IMAP

La fosfodiesterasa 1 (incluyendo PDE1A, PDE1B y PDE1C) es una enzima fosfodiesterasa dependiente de calcio/calmodulina que convierte el monofosfato de guanosina cíclico (cGMP) en monofosfato de 5'-guanosina (5'-GMP). La PDE1B también puede convertir un sustrato de cGMP modificado, tal como la molécula fluorescente cGMP-fluoresceína, en la correspondiente GMP-fluoresceína. La generación de GMP-fluoresceína a partir de cGMP-fluoresceína se puede cuantificar, usando, por ejemplo, el reactivo de partículas de afinidad con metal inmovilizado IMAP (Molecular Devices, Sunnyvale, CA).

En resumen, el reactivo IMAP se enlaza con alta afinidad al 5'-fosfato libre que se halla en GMP-fluoresceína y no en cGMP-fluoresceína. El complejo resultante GMP-fluoresceína-IMAP es grande con respecto a cGMP-fluoresceína. Los fluoróforos pequeños que están enlazados a un complejo grande, que da vueltas lentamente, se pueden distinguir de los fluoróforos no enlazados, porque los fotones emitidos a medida que estos fluorescen retienen la misma polaridad que los fotones usados para excitar la fluorescencia.

En la evaluación de la fosfodiesterasa, cGMP-fluoresceína, que no se puede enlazar a IMAP y, por lo tanto, retiene poca polarización de fluorescencia, se convierte en GMP-fluoresceína, que, cuando se enlaza a IMAP, produce un gran aumento en la polarización de fluorescencia (Δmp). La inhibición de la fosfodiesterasa, por lo tanto, se detecta como una disminución en Δmp .

30 Evaluación enzimática

Materiales: todos los productos químicos están disponibles a través de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO), excepto los reactivos IMAP (el tampón de reacción, el tampón de enlace, el FL-GMP y las perlas de IMAP), que están disponibles a través de Molecular Devices (Sunnyvale, CA).

Evaluación: las enzimas fosfodiesterasas que se pueden usar incluyen: fosfodiesterasa cerebral bovina específica para nucleótidos cíclicos 3',5' (Sigma, St. Louis, MO) (predominantemente, PDE1B, pero también contiene PDE1A y PDE1C) y PDE1A, PDE1B y PDE1C humanas recombinantes de longitud completa, que se pueden producir, por ejemplo, en células HEK o Sf9 por parte de un experto en la materia. La enzima PDE1 se reconstituye con glicerol al 50 % a 2,5 U/ml. Una unidad de enzima hidrolizará 1,0 μ mol de 3',5'-cAMP a 5'-AMP por minuto a un pH 7,5 a 30 °C. Una parte de enzima se añade a 1.999 partes de tampón de reacción (CaCl₂ 30 μ M, 10 U/ml de calmodulina (Sigma P2277), Tris-HCl 10 mM a un pH 7,2, MgCl₂ 10 mM, BSA al 0,1 %, NaN₃ al 0,05 %) para producir una concentración final de 1,25 mU/ml. Se añaden 99 μ l de solución enzimática diluida a cada pocillo en una placa de poliestireno de fondo plano de 96 pocillos, a la que se añade 1 μ l de compuesto de ensayo disuelto en DMSO al 100 %. Los compuestos se mezclan y se preincuban con la enzima durante 10 min a temperatura ambiente. La reacción de conversión de FL-GMP se inicia mediante la combinación de 4 partes de mezcla de enzima e inhibidor con 1 parte de solución de sustrato (0,225 μ M) en una placa de microtitulación de 384 pocillos. La reacción se incuba en la oscuridad a temperatura ambiente durante 15 min. La reacción se detiene mediante la adición de 60 μ l de reactivo de enlace (dilución de 1:400 de perlas de IMAP en tampón de unión suplementado con dilución de 1:1.800 de antiespumante) a cada pocillo de la placa de 384 pocillos. La placa se incuba a temperatura ambiente durante 1 hora para permitir que avance la finalización de la unión de IMAP y, a continuación, se coloca en un lector de microplacas multimodo Envision (PerkinElmer, Shelton, CT) para medir la polarización de fluorescencia (Δmp).

Una disminución en la concentración de GMP, medida como Δmp disminuida, es indicativa de la inhibición de la actividad de la PDE. Los valores de CI_{50} se determinan mediante la medición de la actividad enzimática en presencia de 8 a 16 concentraciones de compuesto que varían de 0,0037 nM a 80.000 nM y, a continuación, mediante la representación de la concentración de fármaco frente a la Δmp , lo que permite que se estimen valores de CI_{50} usando soporte lógico de regresión no lineal (XLFit; IDBS, Cambridge, MA).

Los compuestos de la invención se someten a ensayo en una evaluación, tal como se describe o de manera similar se describe en el presente documento, para determinar la actividad inhibidora de la PDE1, compuestos que tienen, en general, valores de CI_{50} contra la PDE1 de menos de 75 nM y/o la PDE1B (HEK/Sf9) de menos de 10 nM y/o la PDE1A (HEK) y/o la PDE1C (HEK) bovinas de menos de 1 nM.

65 EJEMPLO 12: análisis farmacocinético de los compuestos de la invención

Animales: se proporcionan ratones C57BL/6 macho (Jackson Laboratories, 25-30 g en peso corporal) mediante Jackson Laboratories. Se alojan hasta cinco ratones por jaula y se mantienen en un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas con acceso a alimento y agua *ad libitum*. Todos los procedimientos para el manejo y uso de animales siguen las pautas del Institutional Animal Care and Use Committee (IACUC) de la Universidad de Columbia, de acuerdo con las pautas de la NIH. Se usan ratones de ocho semanas de edad (N=3/nivel de dosis o grupo de tratamiento) en los experimentos.

Tratamiento experimental: compuestos: los compuestos seleccionados de la invención se evalúan en el presente estudio. Formulación/vehículo: el 3 % de HCl 1 N, el 5 % de labrasol y el 92 % de TPGS al 5 % en tampón de citrato 0,05 M (CB, pH 4,0). El/los compuesto/s de ensayo se preparan como solución en vehículo y se dosifican en un volumen de 8 ml/kg.

Preparación de compuesto: los materiales de base en polvo del/de los compuesto/s de ensayo se miden y se disuelven en el 3 % de HCl 1 N, el 5 % de labrasol y el 92 % de TPGS al 5 % en tampón de citrato 0,05 M (CB, pH 4,0). Se añaden dos o tres capas de perlas de vidrio de 3 mm al fondo del tubo de vidrio de 10 ml para promover el mezclado. El tubo se mezcla usando un mezclador en vórtice de sobremesa y, después, se sonica usando un sonicador VWR (modelo 750) durante aproximadamente 5 min hasta que el polvo de fármaco se disuelve totalmente en una solución de vehículo.

Tratamiento de animales: los ratones (N=3 ratones/dosis/punto temporal) reciben una dosis oral de 10 mg/kg (PO) del/de los compuesto/s de ensayo en el momento 0. Los grupos de ratones se sacrifican en un punto temporal específico, 0,25, 0,5, 1 o 2 h después de la administración del fármaco. El tejido cerebral se recoge y se congela a -80 °C, hasta el análisis. Se extrae sangre de los ratones mediante punción de la vena retroorbital usando una pipeta Pasteur (VWR, n.º Cat 53283-911), a continuación, se deposita en tubos de recogida de sangre recubiertos de silicio que contienen una solución de citrato de sodio 0,105 M (BD Vacutainer, n.º 366392, Franklin Lakes, NJ). Las muestras de sangre se centrifugan a la velocidad de 8.000 g durante 40 minutos a 4 °C (TOMY, microcentrifugadora refrigerada de sobremesa, Fremont, CA 94583) y el plasma se decanta en tubos Eppendorf y se congela a -80 °C hasta el análisis. Las muestras de plasma y tejido cerebral se procesan y analizan por parte del grupo analítico usando métodos de CL-EM/EM, tal como se describe a continuación.

Preparación de muestra: las muestras de plasma se preparan para el análisis de la siguiente manera: se transfieren 50 µl de las muestras de plasma a un microtubo de polipropileno de 500 µl (Eppendorf n.º Cat 022363611) de la siguiente manera:

Patrones	Muestras
50 µl de control (muestra para ensayo en blanco) de plasma	50 µl de muestra de ensayo de plasma
10 µl de solución de trabajo de patrón en 1:1 de metanol:agua	10 µl de 1:1 de metanol:agua
150 µl de patrón 0,1 µM en metanol	150 µl de patrón 0,1 µM en metanol

Cada tubo se mezcla en vórtice, a continuación, se centrifuga durante 20 min a 15.000 rpm. Se recoge el sobrenadante y, a continuación, se transfieren 100 µl de cada uno a una placa Elisa de polipropileno de 96 pocillos para el análisis espectrométrico de masas.

Las muestras de homogenado cerebral se prepararon para el análisis de la siguiente manera: se pesan y homogenizan aproximadamente 0,5 g de tejido cerebral con 1 ml de agua Milli-Q. A continuación, se transfieren 60 µl del homogenado resultante a un microtubo de polipropileno limpio de 500 µl (Eppendorf n.º Cat 022363611) y se someten a tratamiento, tal como se muestra a continuación:

Patrones	Muestras
60 µl de control (muestra para ensayo en blanco) de homogenado cerebral	60 µl de muestra de ensayo de homogenado cerebral
20 µl de solución de trabajo de patrón en 1:1 de metanol:agua	20 µl de 1:1 de metanol:agua
180 µl de patrón 0,1 µM en metanol	180 µl de patrón 0,1 µM en metanol

Cada tubo se somete a vórtice, a continuación, se centrifuga durante 20 min a 15.000 rpm usando una centrifugadora de sobremesa Tomy a 4 °C. El patrón es un patrón interno usado para la cuantificación de CL-EM/EM. A continuación, se transfieren 150 µl de cada sobrenadante a una placa de 96 pocillos para el análisis espectrométrico de masas. Cualquier plasma u homogenado restante se almacena a aproximadamente -20 °C en espera de cualquier análisis de repetición necesario. Para cada muestra de ensayo, se prepara una curva de calibración que cubre el intervalo de 0,5 - 500 ng/ml.

Análisis espectrométrico de masas y HPLC: el análisis para cuantificar la concentración de cada compuesto en el

plasma y el homogenado cerebral se lleva a cabo usando HPLC de fase inversa, seguida de detección espectrométrica de masas usando los parámetros enumerados:

	HPLC: Waters Alliance 2795 HT		
Fase móvil A:	Ácido fórmico al 0,1 % en agua		
Fase móvil B:	Ácido fórmico al 0,1 % en metanol		
Columna:	Phenomenex Synergi 4 µ Fusion-RP de 50 x 2 mm		
Temperatura de la columna:	40 °C		
Tiempo (min)	Disolvente A (%)	Disolvente B (%)	Caudal (ml/min)
0	80	20	0,6
2	0	100	0,6
4	0	100	0,6
Flujo de equilibrio rápido de Waters Alliance 2795 LC (ml/min):	5		
Tiempo de equilibrio rápido de Waters Alliance 2795 LC (min):	0,25		
Tiempo de reequilibrio (min):	1		
Volumen de inyección (µl):	10		

- 5 Cada compuesto se detecta y cuantifica usando el Control de Reacción Múltiple (MRM) del modo de electropulverización positiva con un sistema de espectrometría de masas Waters QuattroMicro™.

10 RESULTADOS: análisis de plasma y cerebro: todos los compuestos de ensayo sometidos a ensayo se pudieron detectar y analizar cuando se añadieron al plasma de control. Las curvas de patrón se establecen antes del análisis de las muestras y se ha comprobado que son lineales en el intervalo de 0,5-1.500 ng/ml en el plasma y 0,5-500 ng/ml en el cerebro. Los niveles plasmáticos y cerebrales de cada compuesto se determinan y expresan como medias + desviación típica en cada compuesto en cada punto temporal. Los valores de $C_{m\acute{a}x}$ y $T_{m\acute{a}x}$ de cerebro y plasma se estiman para cada compuesto mediante inspección visual de los datos. También se calcula la relación de concentración de cerebro/plasma (B/P) en cada compuesto mediante la división $AUC_{(0-2\ h)}$ de cerebro/ $AUC_{(0-2\ h)}$ de plasma o $C_{m\acute{a}x}$ de cerebro/ $C_{m\acute{a}x}$ de plasma.

20 Resultados: mediante el uso del procedimiento descrito o de manera similar descrito, los compuestos de los Ejemplos 2-6 y 8-10 se someten a ensayo y presentan una excelente biodisponibilidad oral al plasma con una exposición cerebral correspondientemente baja (relaciones de B/P que varían de 0,02-0,33). En particular, el compuesto de los Ejemplos 4-5 y 7-10 tiene una relación de B/P de menos de aproximadamente 0,05. El compuesto de los Ejemplos 1-3 tiene una relación de B/P de aproximadamente 0,1 o menos. El compuesto del Ejemplo 6 tiene una relación de B/P de aproximadamente 0,3. Por el contrario, la relación de B/P de (6aR,9aS)-3-(fenilamino)-5,6a,7,8,9,9a-hexahidro-5-metil-2-(4-(trifluorometil)-bencil)-ciclopent[4,5]imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(2H)-ona es de aproximadamente 4,5-4,8.

25 **EJEMPLO 13: efectos de la inhibición de la PDE1 sobre la hipertrofia cardíaca inducida por isoproterenol:**

30 El compuesto del Ejemplo 2 se somete a ensayo en un modelo de ratón donde los ratones se someten a tratamiento con isoproterenol. Tal modelo puede resultar útil para extrapolar a enfermedades o trastornos que implican un agrandamiento del corazón o tejido cardíaco, por ejemplo, una enfermedad cardíaca congestiva.

Animales: ratones 129S1/SvImJ, de 20-40 gramos, Jackson Laboratories (Bar Harbor, ME).

35 Número y sexo: 40 machos.

Alojamiento y enriquecimiento: los animales se alojan individualmente durante el estudio en jaulas estilo caja de zapatos en una habitación medioambientalmente controlada.

40 Alimento: los animales reciben alimentos dietéticos convencionales *ad libitum*.

Agua: los animales reciben agua corriente *ad libitum*.

Contaminantes: no existen contaminantes conocidos en los alimentos o el agua que puedan interferir con este estudio.

45 Condiciones medioambientales: la temperatura ambiente de los animales se ajusta para mantenerse entre 18 y 24 °C. Se implementa un ciclo de oscuridad de 12 horas, a menos que se interrumpa mediante los procedimientos del estudio.

Selección de animales: los animales se seleccionan para el estudio basándose en el estado de salud, el peso corporal

u otros datos relevantes, según corresponda.

Compuesto de ensayo del Ejemplo 2: el compuesto de ensayo del Ejemplo 2 se suministra en forma de un polvo. Las soluciones de dosificación del artículo de ensayo se preparan el día de la administración mediante la disolución del compuesto de ensayo en el vehículo (cloruro de sodio al 0,9 % para inyección, U.S.P.) a una concentración de 2,0 mg/ml de solución madre/de dosificación. Los compuestos se agitan con un mezclador en vórtice y se sonicán para garantizar que el compuesto esté en solución. La solución de 2,0 mg/ml se diluye con vehículo para crear las soluciones de dosificación de 0,2 mg/ml y 0,6 mg/ml. Las soluciones de dosificación se almacenan en un refrigerador entre las dosis diarias y se deja que vuelvan a temperatura ambiente antes de la dosis nocturna.

Compuesto de ensayo de isoproterenol: el compuesto de ensayo de isoproterenol se suministra mediante Sigma (St. Louis, MO) en forma de un polvo. Las soluciones de dosificación del artículo de ensayo se preparan el día de la administración mediante la disolución del compuesto de ensayo en el vehículo (cloruro de sodio al 0,9 % para inyección, U.S.P.) a una concentración de 2,0 mg/ml. El compuesto se agita con un mezclador en vórtice y se sonica para garantizar que el compuesto esté en solución.

	Grupos					
	1	2	3	4	5	6
Artículo de ensayo	ND	ND	Vehículo	Ejemplo 2	Ejemplo 2	Ejemplo 2
Concentración del artículo de ensayo (mg/ml)	ND	ND	0	0,2	0,6	2
Dosificación 3 del artículo de ensayo (mg/kg)	ND	ND	0	1	3	10
Volumen de dosis del artículo de ensayo (ml/kg)	ND	ND	5	5	5	5
Concentración de isoproterenol (mg/ml)	0	2	2	2	2	2
Dosificación de isoproterenol (mg/kg)	0 ¹	10 ¹	10 ²	10 ²	10 ²	10 ²
Volumen de dosis de isoproterenol (ml/kg)	5	5	5	5	5	5
Cantidad de ratones macho	6	6	7	7	7	7

El vehículo es cloruro de sodio al 0,9 % para inyección, U.S.P.
 1 Los ratones recibirán una inyección subcutánea en embolada a la dosis indicada una vez/día desde los días 1-13.
 2 Los ratones recibirán una inyección subcutánea en embolada a la dosis indicada una vez/día desde los días 4-9.
 3 Los ratones recibirán una inyección intraperitoneal en embolada a la dosis indicada dos veces/día desde los días 1-9.

Los ratones en los Grupos 1 y 2 se dosifican a diario a través de administración subcutánea.

Los días 7, 10 y 14, se pesan 2 animales de los Grupos 1 y 2 y, a continuación, se sacrifican a través de asfixia con CO2. Los corazones se extraen y se infunden suavemente con solución salina enfriada con hielo hasta que estén transparentes. Se pesa el corazón entero. Se retiran las aurículas y el ventrículo izquierdo (con tabique) se separa del ventrículo derecho. Los ventrículos se pesan por separado. La tibia izquierda se retira y se separa del tejido blando. La medición longitudinal se obtiene con un micrómetro digital.

Los ratones en los Grupos 3-6 se dosifican una vez/día con isoproterenol por vía subcutánea desde los días 4-9 y dos veces/día con vehículo o compuesto de ensayo a través de administración intraperitoneal desde los días 1 a 9.

Grupos 3-6: procedimiento terminal

El día 10 (basándose en los resultados de los Grupos 1 y 2), los animales de cada grupo se pesan y, a continuación, se sacrifican a través de asfixia con CO2. Los corazones se extraen y se infunden suavemente con tampón de krebs-henseleit enfriado con hielo (Sigma 3753) hasta que quede transparente. Se pesa el corazón entero. Se retiran las aurículas y el ventrículo izquierdo (con tabique) se separa del ventrículo derecho. Los ventrículos se pesan por separado. Los ventrículos se almacenan en tampón de krebs-henseleit enfriado con hielo durante aproximadamente 15 minutos y, a continuación, se transfieren a formalina tamponada al 10 % a temperatura ambiente hasta su posible transporte para un posible análisis futuro.

La tibia izquierda se retira y se separa del tejido blando. La medición longitudinal se obtiene con un micrómetro digital.

Las aurículas y la tibia disecadas se eliminan junto con el resto del cadáver. Antes de la cardiectomía, se extrae una muestra de sangre de 0,5 ml en un tubo de recolección que contiene anticoagulante K2-EDTA. La muestra se almacena en hielo hasta que se centrifuga en una centrifugadora refrigerada. El plasma se separa y se congela en

hielo seco y, a continuación, se almacena en un congelador para mantenerse a aproximadamente -20 °C hasta su transporte en hielo seco para un posible análisis futuro.

5 Mediante el uso del procedimiento, tal como se ha descrito o de manera similar se ha descrito anteriormente, el compuesto del Ejemplo 2 de la invención se evalúa y proporciona los siguientes resultados:

Grupo	Relación de HW/TL (media)	Relación de HW/TL (error típico)
Vehículo	9,2427	0,3364
1 mg/kg del Comp. 2	8,4876	0,3507
3 mg/kg del Comp. 2	8,0830	0,1489
10 mg/kg del Comp. 2	8,0976	0,2279

10 El tratamiento con isoproterenol en ratones aumenta el tamaño cardíaco (el tamaño se indica mediante el peso cardíaco (g)/longitud de la tibia (mm)) en ratones no sometidos a tratamiento con el compuesto del Ejemplo 2. La administración oral de hasta 10 mg/kg da como resultado un efecto estadísticamente significativo sobre el desarrollo de hipertrofia cardíaca inducida por isoproterenol. De manera específica, a 1 mg/kg, existe una reducción de aproximadamente el 8 % en la relación de peso cardíaco/longitud de tibia (HW/TL) en comparación con el vehículo, mientras que tanto a 3 mg/kg como a 10 mg/kg, existe una reducción de aproximadamente el 12,5 % en la relación de HW/TL en comparación con el vehículo. El compuesto del Ejemplo 2 también previene significativamente la hipertrofia cardíaca a una dosis de 3 mg/kg y 10 mg/kg. El aumento cardíaco inducido por isoproterenol, tal como se mide mediante la relación (LV+RV)/TL (el ventrículo izquierdo más el peso del ventrículo derecho/la longitud de la tibia), se reduce en el 10 % en comparación con el vehículo para la dosificación de 3 mg/kg y 10 mg/kg.

20 **EJEMPLO 14: efectos de la inhibición de la PDE1 sobre la hipertrofia cardíaca en el modelo de ratón de constricción aórtica transversal (TAC):**

Animales: ratones C59Bl/6, de 20-40 gramos, Charles River (Portage, MI).

25 Número y sexo: 35 machos.

Alojamiento y enriquecimiento: los animales se alojan individualmente durante el estudio en jaulas estilo caja de zapatos en una habitación medioambientalmente controlada.

30 Alimento: los animales reciben alimentos dietéticos convencionales *ad libitum*.

Agua: los animales reciben agua corriente *ad libitum*.

35 Condiciones medioambientales: la temperatura ambiente de los animales se ajusta para mantenerse entre 18 y 24 °C. Se implementa un ciclo de oscuridad de 12 horas, a menos que se interrumpa mediante los procedimientos del estudio.

Selección de animales: los animales se seleccionan para el estudio basándose en el estado de salud, el peso corporal u otros datos relevantes, según corresponda.

40 Compuesto de ensayo del Ejemplo 2: se formula el compuesto de ensayo del Ejemplo 2. Las soluciones de dosificación del artículo de ensayo se preparan mediante la titulación de la base libre con 1 mol/mol de HCl diluido (0,02 N) y la dilución del compuesto de ensayo disuelto en el vehículo (metilcelulosa al 0,5 % en agua destilada) hasta una concentración final de 0,45 mg/ml y 1,5 mg/ml de solución de dosificación. Se prepara un suministro de formulación para treinta días de dosificación (días 1-6 para la 1ª quirúrgica).

45 Compuesto de ensayo de referencia: losartán de potasio: el losartán se obtiene mediante CorDynamics y se prepara el día de la administración mediante la disolución en el vehículo (metilcelulosa al 0,5 % en agua destilada) a una concentración de 4,5 mg/ml de solución de dosificación. El compuesto se agita con un mezclador en vórtice y se sonica para garantizar que el compuesto esté en solución.

50

	Grupos				
	1	2	3	4	5
Artículo de ensayo	Vehículo	Vehículo	Ejemplo 2	Ejemplo 2	Losartán
Concentración del artículo de ensayo (mg/ml)	ND	0	0,45	1,5	4,5
Dosificación del artículo de ensayo (mg/kg/dosis)	ND	0 ¹	3 ¹	10 ¹	30 ²
Volumen de dosis del artículo de ensayo (ml/kg/dosis)	ND	6,67	6,67	6,67	6,67
Cantidad de ratones macho	7	7	7	7	7

Los animales del Grupo 1 reciben una constricción aórtica transversal simulada y los animales del Grupo 2-5 reciben una constricción aórtica transversal en el día -1.

El vehículo es metilcelulosa al 0,5 %.

¹Los ratones reciben la dosis oral, tal como se ha indicado anteriormente, dos veces/día desde el día 1 después de la cirugía hasta el día 28.

Los ratones reciben la dosis oral, tal como se ha indicado anteriormente, una vez/día desde el día 1 después de la cirugía hasta el día 28

- 5 Cirugía de constricción aórtica transversal: los animales se anestesian con isoflurano usando un cono nasal conectado a un vaporizador que suministra isoflurano al 1-2 % impulsado por oxígeno al 100 %. Después de la anestesia inicial con isoflurano, los ratones reciben 1 mg/kg de Buprenex SR (1 mg/ml, s.c.) y 10 mg/kg de etomidato (2 mg/ml, i.p.). Los animales son intubados para ventilación mecánica. El tubo endotraqueal está conectado a un ventilador mecánico 15 que proporciona ventilación a presión positiva con isoflurano al 1-2 % como oxígeno restante, ajustado para mantener ~120 respiraciones/min con un volumen corriente de ~200 µl. La temperatura corporal se controla durante todo el experimento.
- 10 Se realiza una esternotomía desde el manubrio a través de la segunda o tercera costilla con el fin de exponer la aorta en la cavidad torácica. La aorta se limpia del tejido circundante y la aorta transversal se sujeta con una minipinza de titanio, el diámetro es similar a una aguja 27G. La aorta transversal de ratones en el Grupo 1 se limpia del tejido circundante, pero no se sujeta. Se cierra la incisión, se retira el tubo endotraqueal y se deja al animal que se recupere.
- 15 Inmediatamente después de la finalización del procedimiento quirúrgico, los ratones se colocan en una jaula de recuperación en la sala de recuperación. Los animales se devuelven al alojamiento general una vez que están en alerta y de manera ambulatoria.
- 20 La duración del tratamiento postoperatorio se determina mediante el retorno a la función preoperatoria normal. Esto se determina mediante la actitud, el nivel de actividad y el apetito. El control postoperatorio diario se realiza durante 4 días después de la operación. Los puntos se retiran cuando los sitios quirúrgicos han cicatrizado lo suficiente, aproximadamente 10-14 días después de la cirugía.
- 25 Los ratones se dosifican dos veces al día con vehículo o el compuesto del Ejemplo 2 a través de administración oral con aproximadamente 6 horas entre cada dosis, comenzando el día 1 después de la cirugía. Los ratones se dosifican una vez al día con losartán a través de administración oral. Los pesos corporales se toman después de la llegada, antes de la cirugía, antes de la dosificación en el primer día de dosificación y cada tercer día de dosificación para fines de cálculo de dosis.
- 30 El día 28, se realizan mediciones ecocardiográficas en todos los grupos experimentales. Los animales se anestesian con isoflurano usando un cono nasal conectado a un vaporizador que suministra isoflurano al 1-2 % impulsado por oxígeno al 100 %. Los ratones se colocan en posición de decúbito supino sobre una plataforma de calentamiento para mantener la temperatura corporal a 37±0,5 °C. La frecuencia cardíaca se controla durante todo el experimento. Las imágenes transtorácicas bidimensionales, en modo B, en modo M y de Doppler pulsado se adquieren con un sistema ecocardiográfico de alta resolución (VeVo 770, Visual Sonics, Toronto, ON, Canadá) equipado con un transductor mecánico de 30 MHz.
- 35 Después de las mediciones ecocardiográficas, los animales se sacrifican a través de asfixia con CO₂. Los corazones y los pulmones se extraen y se infunden suavemente con tampón de krebs-henseleit enfriado con hielo (Sigma 3753) hasta que quede transparente. Se pesan los pulmones y se separan los pulmones derecho e izquierdo. Los pulmones derecho e izquierdo se congelan inmediatamente en nitrógeno líquido y se colocan en tubos separados. Se pesa el corazón entero. Se retiran las aurículas y el ventrículo izquierdo (con tabique) se separa del ventrículo derecho. Los ventrículos se pesan por separado antes de dividirse en dos fragmentos. Los fragmentos del ventrículo se congelan en nitrógeno líquido y se colocan en tubos separados. Las muestras de nitrógeno líquido se almacenan en un congelador ajustado para mantenerse aproximadamente -80 °C hasta que se transportan en hielo seco al patrocinador para un posible análisis futuro.
- 45

La tibia izquierda se retira y se separa del tejido blando. La medición longitudinal se obtendrá con un micrómetro digital. La tibia disecada se elimina con el resto del cadáver.

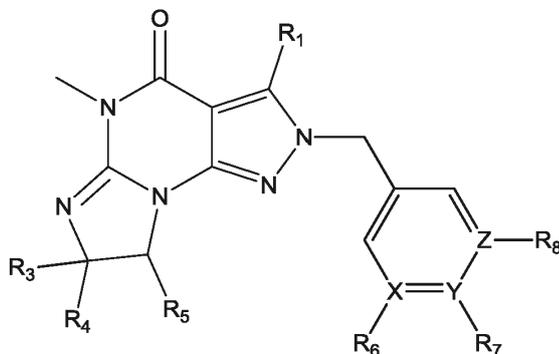
- 5 Antes de la cardiectomía, se extrae una muestra de sangre de 0,5 ml en un tubo de recolección que contiene anticoagulante de citrato de sodio. La muestra se almacena en hielo hasta que se centrifuga en una centrifugadora refrigerada. El plasma se separa y se congela en hielo seco y, a continuación, se almacena en un congelador para mantenerse a aproximadamente -20 °C hasta su transporte en hielo seco para un posible análisis futuro.
- 10 Mediante el uso de los procedimientos descritos o de manera similar descritos anteriormente, se obtienen los siguientes resultados:

Grupo	Relación LV+S/TL terminal (media)	Relación de LV+S/TL terminal (med. de error típico)
Operación simulada	4,6	0,14
Vehículo	6,6	0,32
3 mg/kg del Comp. 2	5,8	0,25
10 mg/kg del Comp. 2	5,8	0,46
40 mg/kg de losartán	6,2	0,33

- 15 El compuesto del Ejemplo 2 a 3 mg/kg y 10 mg/kg muestra una tendencia a revertir la hipertrofia cardíaca inducida por la constricción de TAC. La hipertrofia se determina basándose en el tamaño del corazón (ventrículo izquierdo + peso del tabique en mg) normalizado al tamaño del animal (longitud de la tibia en mm), definido como la "relación de TAC". Los ratones que reciben la operación simulada muestran una relación de TAC de 4,6 (mg/mm), mientras que los ratones que reciben el compuesto del Ejemplo 2 a 3 mg/kg o 10 mg/kg muestran una relación de TAC de 5,8. Por el contrario, los ratones que reciben vehículo muestran una relación de TAC de 6,6 y los ratones que reciben losartán muestran una relación de TAC de 6,2. La diferencia entre los grupos de TAC de simulación y de vehículo es estadísticamente significativa, mientras que la diferencia entre los grupos de simulación y compuesto del Ejemplo 2 no es estadísticamente significativa. La diferencia entre el grupo de vehículo y el grupo de losartán tampoco es estadísticamente significativa. Por tanto, el compuesto del Ejemplo 2 muestra una tendencia a reducir la hipertrofia inducida por TAC.
- 20
- 25

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de Fórmula I:



Fórmula I

en forma libre o de sal, en donde

- 10 (i) R_1 es alquilo C_{1-4} o $-NH(R_2)$, en donde R_2 es fenilo opcionalmente sustituido con halo;
 (ii) X, Y y Z son, de manera independiente, N o C;
 (iii) R_3 , R_4 y R_5 son, de manera independiente, H o alquilo C_{1-4} ; o R_3 es H y R_4 y R_5 , en conjunto, forman un puente de trimetileno,
 (iv) R_6 , R_7 y R_8 son, de manera independiente:

15 H,
 alquilo C_{1-4} ,
 pirid-2-ilo sustituido con hidroxilo
 $-S(O)_2-NH_2$;

- 20 (v) con la condición de que cuando X, Y y/o Z sean N, entonces R_6 , R_7 y/o R_8 , respectivamente, no estén presentes; y cuando X, Y y Z sean todos C, entonces al menos uno de R_6 , R_7 o R_8 sea $-S(O)_2-NH_2$ o pirid-2-ilo sustituido con hidroxilo.

25 2. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en donde R_3 , R_4 y R_5 son, de manera independiente, H o alquilo C_{1-4} , en forma libre o de sal.

30 3. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde R_3 y R_4 son, de manera independiente, alquilo C_{1-4} y R_5 es H, en forma libre o de sal.

4. El compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde R_1 es $-NH(R_2)$, en donde R_2 es fenilo opcionalmente sustituido con halo, en forma libre o de sal.

35 5. El compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde al menos uno de X, Y y/o Z es N, los correspondientes R_6 , R_7 y/o R_8 no existen y los restantes R_6 , R_7 y/o R_8 son, de manera independiente, H o alquilo C_{1-4} , en forma libre o de sal.

40 6. El compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde X y Z son N e Y es C, en forma libre o de sal, opcionalmente, en donde R_6 y R_8 no existen y R_7 es alquilo C_{1-4} , en forma libre o de sal.

7. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en donde:

- 45 (i) R_1 es $-NH(R_2)$, en donde R_2 es fenilo opcionalmente sustituido con halo;
 (ii) al menos uno de X, Y y Z es N;
 (iii) R_3 , R_4 y R_5 son, de manera independiente, H o alquilo C_{1-4} ; o R_3 es H y R_4 y R_5 , en conjunto, forman un puente de trimetileno,
 (iv) R_6 , R_7 y R_8 son, de manera independiente, H o alquilo C_{1-4} ;
 (v) con la condición de que cuando X, Y y/o Z sean N, entonces R_6 , R_7 y/o R_8 , respectivamente, no estén presentes; y cuando X, Y y Z sean todos C, entonces al menos uno de R_6 , R_7 o R_8 sea $-S(O)_2-NH_2$ o pirid-2-ilo sustituido con hidroxilo,

50 en forma libre o de sal.

8. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 7, en donde R₃ y R₄ son, de manera independiente, alquilo C₁₋₄ y R₅ es H, en forma libre o de sal.

9. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 7 o la reivindicación 8, en donde X y Z son N, Y es C y R₇ es alquilo C₁₋₄, en forma libre o de sal.

10. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 seleccionado del grupo que consiste en:

3-((4-fluorofenil)amino)-5,7,7-trimetil-2-((2-metilpirimidin-5-il)metil)-7,8-dihidro-2H-imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(5H)-ona;

3-((4-fluorofenil)amino)-5,7,7-trimetil-2-(piridin-3-ilmetil)-7,8-dihidro-2H-imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(5H)-ona;

3-((4-fluorofenil)amino)-5,7,7-trimetil-2-(piridin-4-ilmetil)-7,8-dihidro-2H-imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(5H)-ona;

(6aR,9aS)-2-(4-(6-hidroxipiridin-2-il)bencil)-5-metil-3-(fenilamino)-5,6a,7,8,9,9a-hexahidrociclopenta[4,5]imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(2H)-ona;

4-(((6aR,9aS)-5-metil-4-oxo-3-(fenilamino)-4,5,7,8,9,9a-hexahidrociclopenta[4,5]imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-2(6aH-il)metil)bencenosulfonamida;

3-((4-fluorofenil)amino)-5,7,7-trimetil-2-((6-metilpiridin-3-il)metil)-7,8-dihidro-2H-imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(5H)-ona;

4-((3-((4-fluorofenil)amino)-5,7,7-trimetil-4-oxo-4,5,7,8-tetrahidro-2H-imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-2-il)metil)bencenosulfonamida;

3-((4-fluorofenil)amino)-2-(4-(6-hidroxipiridin-2-il)bencil)-5,7,7-trimetil-7,8-dihidro-2H-imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(5H)-ona;

2-(4-(6-hidroxipiridin-2-il)bencil)-3,5,7,7-tetrametil-7,8-dihidro-2H-imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(5H)-ona;

3-etil-2-(4-(6-hidroxipiridin-2-il)bencil)-5,7,7-trimetil-7,8-dihidro-2H-imidazo[1,2-a]pirazolo[4,3-e]pirimidin-4(5H)-ona;

en forma libre o de sal.

11. Una combinación que comprende el compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, en forma libre o de sal farmacéuticamente aceptable, y uno o más agentes terapéuticos diferentes útiles para el tratamiento de trastornos cardiovasculares (por ejemplo, un antagonista del receptor de la angiotensina II, una enzima convertidora de angiotensina (inhibidor de la ECA), un inhibidor de la endopeptidasa neutra (NEP o neprilisina) y/o un inhibidor de la fosfodiesterasa 5 (PDE5)), en forma libre o de sal farmacéuticamente aceptable.

12. Una composición farmacéutica que comprende el compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, en forma libre o de sal farmacéuticamente aceptable, o la combinación de acuerdo con la reivindicación 11, en combinación o asociación con un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

13. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, en forma libre o de sal farmacéuticamente aceptable, la combinación de acuerdo con la reivindicación 11 o la composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 12, para su uso en un método para el tratamiento o la profilaxis de una enfermedad o un trastorno que se pueden mejorar mediante la modulación de las vías de señalización dependientes de cGMP/PKG, que comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad eficaz del compuesto, de la combinación o de la composición.

14. El compuesto, la combinación o la composición para el uso de la reivindicación 13, en donde la enfermedad o el trastorno:

es un trastorno cardiovascular; o

se selecciona de un grupo que consiste en: hipertrofia, aterosclerosis, infarto de miocardio, insuficiencia cardíaca congestiva, angina, hipertensión, hipertensión esencial, hipertensión pulmonar, hipertensión de las arterias pulmonares, hipertensión pulmonar secundaria, hipertensión sistólica aislada, hipertensión asociada a diabetes, hipertensión asociada a aterosclerosis, hipertensión renovascular,

en donde el método, opcionalmente, comprende, además, administrar un inhibidor de la PDE5, en forma libre o de sal farmacéuticamente aceptable.

15. El compuesto, la combinación o la composición para el uso de la reivindicación 13, en donde la enfermedad o el trastorno:

es un ictus;

es una enfermedad cardiovascular o un trastorno que se asocia a una distrofia muscular; o

es una insuficiencia renal, fibrosis, una enfermedad o un trastorno inflamatorios, una remodelación vascular y una enfermedad o un trastorno del tejido conjuntivo.