

PETITORIO



01 32977
FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE
2000-3

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
Rad. cacion 01032977
Fecha (RCD): 2001-04-27 16:19:48
Tracite C32 PATENTES D 1 REGISTRO/ 411 PRESENCIAL
Dependencia 2320 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

①

SOLICITUD DE

☒ Patente de Invencion

☐ Patente de Modelo de Utilidad

②

SOLICITANTE
(71)

Nombre PFIZER INC
Dirección 235 East 42nd Street, New York New York 10017
Estados Unidos de América
Teléfono 570-0010 Fax 285-6908
E-Mail _____
Domicilio New York Estados Unidos de América

IDENTIFICACION

C C. ☐ NIT ☐
C E ☐ Otro ☐
Número _____

③

REPRESENTANTE
O APODERADO
(74)

Nombre CARLOS R OLARTE
Dirección CALLE 35 No 7-25 Piso 4
Teléfono 570 0010 Fax 285-6908
E-Mail patents bogota@bakernet.com

IDENTIFICACION

C C. ☒ NIT ☐
C E ☐ Otro ☐
Número 79 782 747 TP 74 295

④

INVENTOR (ES)
(72)

Nombre (1) WEICHAO GEORGE CHEN (2) ERIC DAVID COX (3) ANGEL GUZMAN PEPEZ
Dirección (1,2 y 3) Eastern Point Road Groton Connecticut
06340 Estados Unidos de América
Teléfono _____ Fax _____
E-Mail _____
Domicilio _____

IDENTIFICACION

C C ☐ NIT ☐
C E ☐ Otro ☐
Numero _____

⑤

Título (54)

INHIBIDOR DE INTERCAMBIADOR DE SODIO-HIDROGENO DE TIPO 1

⑥

Clasificación Internacional (51) A61K 31/415

⑦

Prioridad

SI ☒ NO ☐

(33) País de Origen

US

(32) Fecha

Abril 28 2000

(31) Número de Solicitud

60/200 432

⑧

Para publicar a partir de la fecha de la presente solicitud a los

6 meses ☐

12 meses ☐

18 meses ☒

Otro ☐

⑨

Comprobante de pago No 15,726, 7,277

Fecha Marzo 9 2001 Febrero 8 2001

Instrucciones para el diligenciamiento del presente formulario ver reverso de esta página.

W00183470
EP1276787
CA 2407535.

78

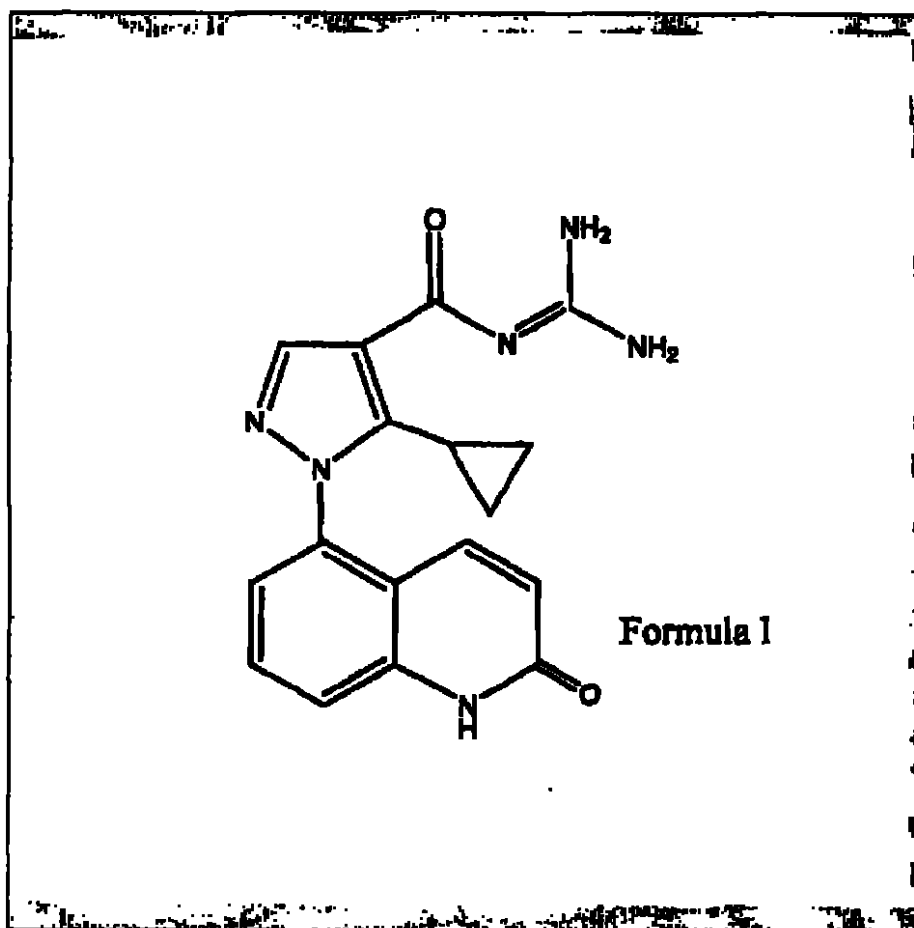
10

Anexos

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud
- ☐ Comprobante de pago de la tasa por concepto de excedente de palabras en la publicación
- ☒ Comprobante de pago por reivindicación de prioridad
- ☒ Certificado de existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica
- ☒ Poderes, si fuere el caso
- ☒ Copia certificada de la primera solicitud si se reivindica prioridad
- ☒ Traducción simple de la primera solicitud, si se reivindica prioridad
- ☒ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante
- ☒ Descripción de la invención
- ☒ Una o más reivindicaciones.
- ☐ Dibujos y/o planos necesarios.
- ☐ De ser el caso, copia del contrato de acceso
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas
- ☐ De ser el caso, certificado de depósito del material biológico
- ☒ Arte final 12x12

11

FIGURA CARACTERISTICA:



Formula 1

12

NOMBRE

CARLOS R. OLIVERA

FIRMA

C.C.

79.782.747 de Bta

T.P. 74.293

Instrucciones para el diligenciamiento del presente formulario, ver reverso de esta página.



3



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 01 - 15,726
FECHA : MARZO 9 DE 2001

Superintendencia y Comercio
Reducciones : 01332977 CANCELADO
Fecha (FOLIO) : 2001-03-27 16:19:48 Folios: 113
Tramite : 002 PATENTES B 1 REGISTRO 411 PRESENTAC
Correspondencia : 2000 DIVISION DE NUEVOS REGISTROS

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	Vr. PAGO
JORGE LUIS BONEZ	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	3292138	08/03/2001	18,563,400.00

***** C O N C E P T O *****

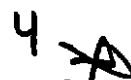
CANT. CONTABILITICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1 50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	356,6 .00
	TOTAL :	\$ 356,640.00

SON: TRESCIENTOS CINCUENTA Y SEIS MIL SEISCIENTOS CUARENTA PESOS

RESPONSABLE :

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No.

Carrera 13 No. 27-00 Pisos 5, 7 y 10
Conmutador: 382 0840
Fax: 350 5220
e-mail: Info@slc.gov.co
www.slc.gov.co
Bogotá, D.C., Colombia



SUPERINTENDENCIA Y CONTROL
 Medicación : 21032977 (100000)
 Fecha (G.M.) : 20.11-21-27 16:19:48 Folios : 122
 Trámite : 1 222 FALTANTES 0 I REGISTRO 411 PRESENTES
 Secretarías : 2022 DISTRITO A- ALICIA MARTINEZ

MIT : 800176089-2

***** C O N C E P T O *****

SOM: CIEN MIL PERROS

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

Carrera 13 No. 27-00 Pisos 5, 7 y 10
Conmutador: 382 0840
Fax: 350 5220
e-mail: info@sic.gov.co
www.sic.gov.co
Bogotá, D.C., Colombia

5
+ ~~7~~

Traducción oficial del inglés por Marlén Neira Castro, resolución
2117 del Ministerio de Justicia de Colombia.

PODER DE PFIZER INC.

CONSULADO DE COLOMBIA EN LONDRES

Fechado el 22 enero, 2001 certifica que Kenneth Greenwood. ejerce funciones de notario de Egham, Surrey Inglaterra, cuya firma fue reconocida por J.M.A. Mason, de Legalizaciones del Ministerio de Relaciones de Gran Bretaña; Que J. Trevor Lumb es el asesor de patentes de Pfizer Inc. sociedad establecida en Nueva York, Estados Unidos. Firma del cónsul: Jairo Berrio.

CERTIFICACION NOTARIAL

El 8 de enero del 2001 el Notario Público da fe:

1. compareció J. Trevor Lumb, domiciliado en Estados Unidos. quien suscribió el anterior documento. 2. Conozco al otorgante y tiene capacidad para el otorgamiento 3. ha suscrito el documento en su carácter de Asesor General Asesor de Patentes de Pfizer Inc, con sede en Nueva York, NY, 4. compañía legalmente constituida, con existencia legal actual y que el acto para el cual se otorgó el poder está dentro del objeto social. 5. El otorgante tiene la representación que ostenta y es legítima. 6. Baso las certificaciones 3, 4 y 5 en estos documentos.

Sello:

Certificado, verificado y autenticado en la localidad de Egham, Surrey el 8 enero, 2001, Kenneth Greenwood Notario Público de Horne Engall & Freedom- sello notarial en alto relieve.

Al reverso:

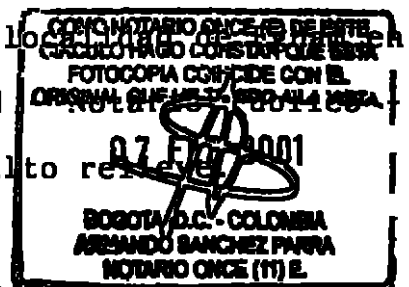
Reino Unido de Gran Bretaña e Irlanda del Norte

No. D653465 - Fecha: 8 enero, 2001

Este documento lleva la firma/sello de K. Greenwood, ejerciendo funciones de Notario Público, firmado por J.M.A. Mason.

Por el Secretario de Estado Principal de su Majestad para Asuntos exteriores y de la Mancomunidad. Sello redondo: Londres.

Marlén Neira C
MARLEN NEIRA CASTRO
Traductor e Intérprete Oficial
Londres - Egham - Londres



PODER DE REPRESENTACIÓN

Poder de representación otorgado por PFIZER INC., compañía domiciliada en el número 235 Este Calle 42 Nueva York, Estado de Nueva York, Estados Unidos, a Carlos Reinaldo Olarte.

Dado y firmado en Nueva York, el 2 de enero de 2001 por:

Trevor Lumb

Asesor General Consejero Patentes.

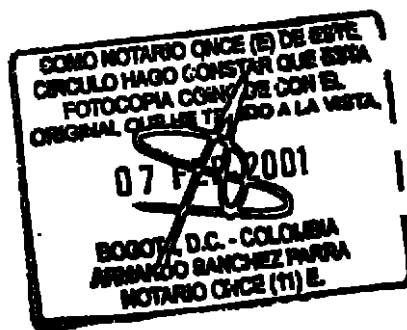
Sello en español:

Ministerio de Relaciones Exteriores No.407609_ certifica las funciones del J. Berrio a la fecha. Bogotá, febrero 2, 2001. Firma el Jefe de Legalizaciones.

--

Traducción certificada, con copia en archivo para confrontación, fechada el 6- 2-2001.

Holguilera C
MARLEN NEIRA CASTRO
Traductor e Intérprete Oficial
Inglés - Español - Inglés
Resolución No. 2117 del 7 Oct 1997



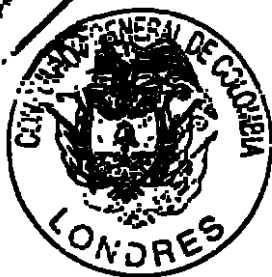
RECEIVED
FEB 11 1964
U.S. AIR FORCE

217411
Chad Chirine
L-1011
L-1011

RECEIVED
FEB 11 1964
U.S. AIR FORCE

2031 FEB 11 1964
Chad Chirine
L-1011
L-1011

RECEIVED
FEB 11 1964
U.S. AIR FORCE
L-1011
L-1011



CONSULADO GENERAL DE COLOMBIA

3RD FLOOR 15-19 GREAT TITCHFIELD STREET LONDON W1W 8HZ
TELEPHONE 020 7637 9893 TELEFAX 020 7637 5804
E-MAIL: CONSULCO@CONSULCO.DEMON.CO.UK

El suscrito Cónsul General de Colombia en Londres, vistos los documentos presentados ante este despacho,

CERTIFICA:

Que el Señor KENNETH GREENWOOD, quien autenticó el documento precedente, ejercía en la fecha las funciones de Notario Público de Egham, Surrey, Inglaterra, y que su firma fue debidamente reconocida por J. M. A. MASON, Funcionario del Departamento de Legalizaciones del Ministerio de Relaciones de la Gran Bretaña, cuya firma se encuentra registrada en este Consulado General.

Que PFIZER INC. es una Sociedad debidamente constituida, organizada y existente en New York, N.Y., Estados Unidos de América, y que cumple con su objeto social de acuerdo con las leyes de ese país.

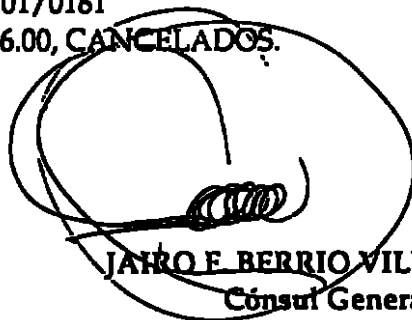
Que el Señor J. TREVOR LUMB, en su calidad de Asesor de Patentes Generales de la mencionada Sociedad, otorga el Poder precedente y su firma ha sido autenticada por el Notario KENNETH GREENWOOD.

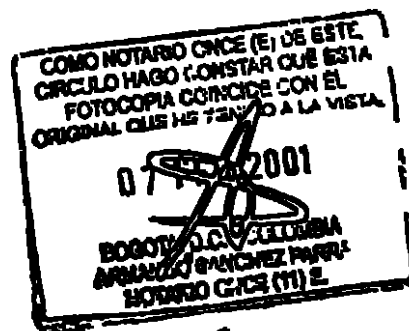
El Cónsul General no asume responsabilidad por el mencionado documento.

Dado en Londres, Reino Unido de la Gran Bretaña, a los veintidos (22) días del mes de enero del año dos mil uno (2001).

Certificación No. 01/0181

Derechos: US\$106.00, CANCELADOS.


JAIRO F. BERRIO VILLARREAL
Cónsul General



RAISBECK, LARA, RODRIGUEZ & RUEDA

Members of the Firm

BAKER & MCKENZIE

ATTORNEYS AT LAW

APARTADO AEREO 3748

TELEFONO: 285-1488

SANTAFE DE BOGOTA, D.C.

COLOMBIA

8

✱

NOTARIAL CERTIFICATION

CERTIFICACION NOTARIAL

On this 8th day of January
19. 2001 the undersigned Notary

A los días del mes de
de 19 el suscrito Notario

CERTIFIES

DA FE

1. That J. Trevor Lumb

1. Que

of age and domiciled in U.S.A.

mayor y domiciliado en

set his hand on the foregoing document.

suscribio de su puño y letra el documento que antecede.

2. That the grantor is to me personally known and that he/she has legal capacity to execute the instrument.

2. Que conozco al otorgante y que éste tiene capacidad legal para el otorgamiento.

3. That the grantor has executed the foregoing document as

3. Que el otorgante ha suscrito el referido documento en su carácter de

Assistant General Patent Counsel

of the juridical person

de la persona jurídica

Pfizer Inc

4. That the juridical person

4. Que la persona jurídica

Pfizer Inc

having its home office in

con sede en

New York, NY.

is duly organized, has present legal existence and that the purposes for which the power of attorney is granted are within the scope of its corporate purposes.

está legalmente constituida, tiene existencia legal actual y que el acto para otorgar el poder de apoderado está comprendido en el objeto social.

5. That the grantor has in fact he referred to authority and that his/her representation is legal.

5. Que el otorgante tiene efectivamente la representación que ostenta, y que ésta es legal.

6. That I have based certifications 3, 4 and 5 above on the following authentic documents for such purpose exhibited to me and which I mention specifically, giving their dates and their origin or source.

6. Que he basado las certificaciones 3, 4 y 5 anteriores en los siguientes documentos auténticos que al efecto se me exhibieron y que menciono específicamente con expresión de sus fechas y de su origen o procedencia:

Certified Verified And Authentic
In The Town Of Egham In Surrey

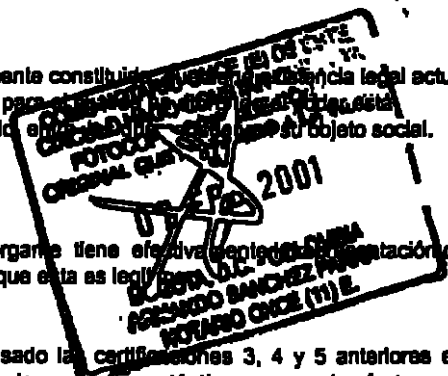
This

KENNETH GREENWOOD
NOTARY PUBLIC

HORNE ENGALL AND FREEMAN
Notary Public



El Notario Público



9
#2

UNITED KINGDOM OF GREAT BRITAIN AND NORTHERN IRELAND

No. **D653465**

Date **8 January, 2001**

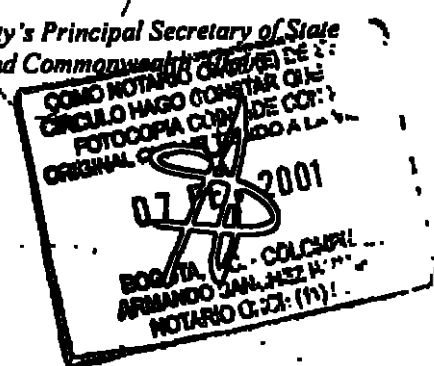
This document bears
the signature / seal of **K Greenwood**

Acting in the capacity of **Notary Public**

Signed by: **J. M. A. Mason**



*For Her Majesty's Principal Secretary of State
For Foreign and Commonwealth Affairs*



RAISBECK, LARA, RODRIGUEZ & RUEDA

Members of the Firm

BAKER & MCKENZIE

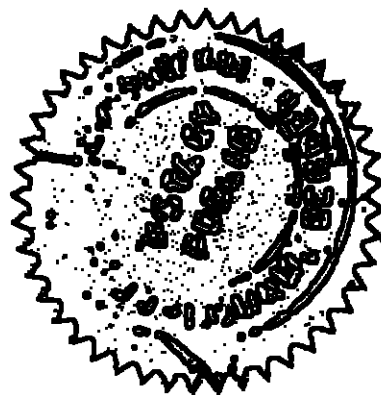
ATTORNEYS AT LAW

APARTADO AEREO 3746

TELEFONO: 225-1400

SANTAFE DE BOGOTA, D.C.

COLOMBIA



POWER OF ATTORNEY

The undersigned.

PFIZER INC.

located in
235 East 42nd Street, New York
Estado de New York, Estados Unidos de
América
declares that it hereby grants to

CARLOS R. OLARTE

a full and sufficient power of attorney to apply to the proper national officers and authorities for the issue of:

Letters Patent, mergers, changes of name, assignments, filing and prosecution of oppositions, changes of address

to which end it empowers them to take all steps necessary before said authorities for the objects stated, to file petitions, prepare descriptions, make protests, declarations, appeals and objections, pay imposts, apply for certifications, receive documents and securities, abandon applications and collect refunds. To the said mandatories sufficient power is granted hereby to receive notifications for and on behalf of the Company, to confer powers on those who are to represent the company judicially and extrajudicially, to answer in court in the matter of all claims and demands that may be presented in connection with the patents, and to do everything that may be required, before administrative or judicial officers of any class giving them likewise power to substitute these presents and revoke such substitutions if necessary.

Done and subscribed in New York, New York,
United States of America.

On the 2nd day of January 2001

J. Trevor Lumb
Assistant General Patent Counsel

La abajo firmada.

PFIZER INC.

domiciliada en
235 East 42nd Street, New York
Estado de New York, Estados Unidos de
América
declara por el presente otorgar a

CARLOS R. OLARTE

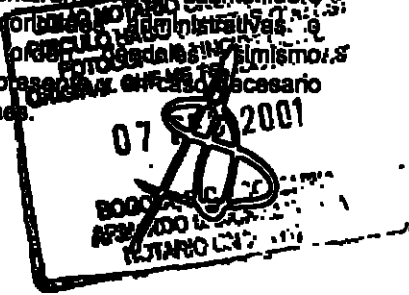
poder especial amplio y bastante para recabar de las oficinas y autoridades nacionales que correspondan, la obtención de:

Solicitudes de Patentes de Invención, cambios de nombre, casiones, presentación y tramitación de oposiciones, cambios de nombre

a cuyo efecto los faculta para dar ante dichas autoridades, todos los pasos necesarios al objeto indicado, elevar solicitudes, formular descripciones, protestas, declaraciones, apelaciones y reclamos, oblar impuestos, solicitar testimonios, recibir documentos y valores, desistir y percibir. Se concede a los expresados mandatarios poder bastante para recibir notificaciones a nombre de la compañía, otorgar poderes a quienes vayan a representar a la compañía judicial y extrajudicialmente, responder en juicio a todas las reclamaciones o demandas que por motivo de las patentes se presentaren y hacer cuanto fuere necesario, ante las autoridades administrativas y judiciales de cualquier orden, facultados en el mismo, facultad para sustituir el presente en caso necesario revocar dichas sustituciones.

Dado y firmado en

A los días del mes de





THE UNITED STATES OF AMERICA

TO ALL TO WHOM THESE PRESENTS SHALL COME:

UNITED STATES DEPARTMENT OF COMMERCE

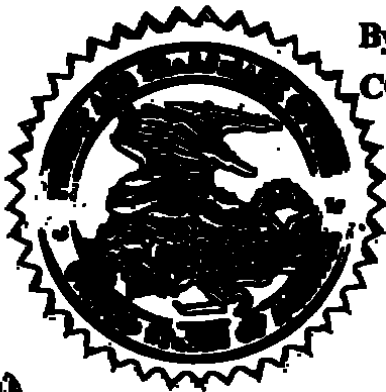
United States Patent and Trademark Office

December 14, 2000

**THIS IS TO CERTIFY THAT ANNEXED HERETO IS A TRUE COPY FROM
THE RECORDS OF THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK
OFFICE OF THOSE PAPERS OF THE BELOW IDENTIFIED PATENT
APPLICATION THAT MET THE REQUIREMENTS TO BE GRANTED A
FILING DATE UNDER 35 USC 111.**

APPLICATION NUMBER: 60/200,432

FILING DATE: April 28, 2000



**By Authority of the
COMMISSIONER OF PATENTS AND TRADEMARKS**

T. Wallace
T. WALLACE

Certifying Officer

5-1-00

A/PK 12
#

PROVISIONAL APPLICATION COVER SHEET

This is a request for filing a PROVISIONAL APPLICATION under 37 CFR 1.53 (b)(2).

Docket Number		PC10866ADO	Type a plus sign (+) inside this box	+
INVENTOR(s)/APPLICANT(s)				
LAST NAME	FIRST NAME	MIDDLE INITIAL	RESIDENCE (CITY AND EITHER STATE OR FOREIGN COUNTRY)	
Chen	Welchao	George	Old Saybrook, CT	
Cox	Eric	D.	Groton, CT	
Guzman-Peraz	Angel		Stonington, CT	
TITLE OF THE INVENTION (280 characters max)				
Sodium-Hydrogen Exchanger Type 1 Inhibitor				
CORRESPONDENCE ADDRESS				
Gregg C. Benson Pfizer Inc Patent Department, MS 4518 Eastern Point Road, Groton, CT 06340				
ENCLOSED APPLICATION PARTS (check all that apply)				
☒ Specification Number of Pages 29 ☒ Claim(s) Number of Pages 3				
☐ Drawing(s) Number of Sheets ☒ Other (specify) Abstract 1 page				
METHOD OF PAYMENT (check one)				
☐ A check or money order is enclosed to cover the Provisional filing fees			PROVISIONAL FILING FEE AMOUNT(\$)	\$150.00
☒ The Commissioner is hereby authorized to charge all required filing fees to, and credit any overpayment to Deposit Account Number: 16-1445. Two copies of this page are enclosed.				

The invention was made by an agency of the United States Government or under a contract with an agency of the United States Government.

- ☒ No.
☐ Yes, the name of the U.S. Government agency and the Government contract number are:

Respectfully submitted,

SIGNATURE [Signature] DATE: 4/28/2000

TYPED or PRINTED NAME A. Dana Olson REGISTRATION NO 31,185
(if appropriate)

- ☐ Additional inventors are being named on separately numbered sheets attached hereto.

PROVISIONAL APPLICATION FILING ONLY

Express Mail No. EJ248205785US

SODIUM-HYDROGEN EXCHANGER TYPE 1 INHIBITOR**BACKGROUND OF INVENTION**

This invention relates to a sodium-hydrogen exchanger type 1 (NHE-1) inhibitor.

5 Myocardial ischemic injury can occur in out-patient as well as in perioperative settings and can lead to the development of sudden death, myocardial infarction or congestive heart failure. There is an unmet medical need to prevent or minimize myocardial ischemic injury, particularly perioperative myocardial infarction. Such a therapy is anticipated to be life-saving and can
10 reduce hospitalizations, enhance quality of life and reduce overall health care costs of high risk patients.

Pharmacological cardioprotection would reduce the incidence and progression of myocardial infarction and dysfunction occurring in these surgical settings (perioperatively). In addition to reducing myocardial damage and
15 improving post-ischemic myocardial function in patients with ischemic heart disease, cardioprotection would also decrease the incidence of cardiac morbidity and mortality due to myocardial infarction and dysfunction in patients "at risk" (such as greater than 65 years, exercise intolerant, coronary artery disease, diabetes mellitus, hypertension) that require non-cardiac surgery.

20 The mechanism(s) responsible for the myocardial injury observed after ischemia and reperfusion is not fully understood.

A variety of publications have disclosed the use of guanidine derivatives as useful for the treatment of, for example, arrhythmias.

A recent published patent application, PCT/1899/00208 published as WO
25 99/43883 on September 2, 1999, the disclosure of which is hereby incorporated by reference, discloses a variety of NHE-1 inhibitors including [5-cyclopropyl-1-(quinolin-5-yl)-1H-pyrazole-4-carbonyl]guanidine. The publication further states that "preferred salts of the immediately preceding compound are the mono- or di-mesylate salts." One group of preferred compounds, which include
30 hydroxyquinoline compounds, is described in claim 102 of the published application. Of course, some of these hydroxyquinoline compounds can exist in several tautomeric forms such as the quinolone form as described in that patent application. In addition, commonly assigned U.S. provisional application serial no.

008240.22420200

EXPRESS MAIL NO. EJ 248 205 785 25

14
A

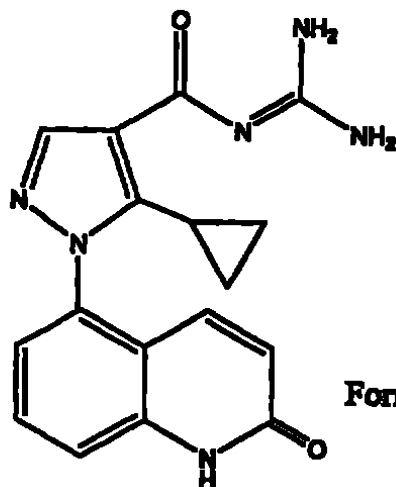
80/162,374 was filed on October 29, 1999 and is directed to crystal forms of the above described NHE-1 inhibitor.

PCT/JP97/04850 application published on June 25, 1998 discloses N-
 5 [(substituted five-membered heteroaryl)]guanidine compounds to be useful as
 inhibitors of Na^+/H^+ exchange and consequently effective for the treatment of
 various diseases such as hypertension, arrhythmia, angina pectoris, myocardial
 infarct, arteriosclerosis, and complications of diabetes.

Thus, there is clearly a need and a continuing search in this field of art for
 compounds for the treatment of perioperative myocardial ischemia.

SUMMARY OF THE INVENTION

This invention is directed to a compound of Formula I



Formula I

15 a prodrug thereof, or a pharmaceutically acceptable salt of said compound or of
 said prodrug, with the proviso that [5-cyclopropyl-1-(quinolin-6-yl)-1H-pyrazole-4-
 carbonyl]guanidine is not included.

As used herein the phrase "a prodrug thereof, or a pharmaceutically
 acceptable salt of said compound or of said prodrug" includes the proviso that (5-
 20 cyclopropyl-1-(quinolin-5-yl)-1H-pyrazole-4-carbonyl]guanidine is not included.

This invention is also directed to substantially pure [5-cyclopropyl-1-(2-
 quinolin-5-yl)-1H-pyrazole-4-carbonyl]guanidine, or a pharmaceutically acceptable
 salt of said compound.

0 8240 2E400209

15

Alternatively, the above compound is named [5-cyclopropyl-1-(2-quinolon-5-yl)-1H-pyrazole-4-carbonyl]guanidine. A preferred salt is the hydrochloride salt, and most preferably, the monohydrochloride salt.

Another aspect of this invention is a method of treating a mammal (e.g., human) having a disease or condition mediated by NHE-1 by administering a therapeutically effective amount of the Formula I compound, a prodrug thereof, or a pharmaceutically acceptable salt of said compound or of said prodrug to the mammal.

Another aspect of this invention is directed to a method of reducing tissue damage (e.g., substantially preventing tissue damage, inducing tissue protection) resulting from ischemia comprising administering to a mammal (e.g., a female or male human) in need of such treatment a therapeutically effective amount of the Formula I compound, a prodrug thereof, or a pharmaceutically acceptable salt of said compound or of said prodrug.

Preferred ischemic tissues taken individually or as a group are cardiac, brain, liver, kidney, lung, gut, skeletal muscle, spleen, pancreas, nerve, spinal cord, retina tissue, the vasculature, or intestinal tissue.

An especially preferred ischemic tissue is cardiac tissue.

It is especially preferred that the Formula I compound, a prodrug thereof, or a pharmaceutically acceptable salt of said compound or of said prodrug is administered to prevent perioperative myocardial ischemic injury.

Preferably, the Formula I compound, a prodrug thereof, or a pharmaceutically acceptable salt of said compound or of said prodrug is administered prophylactically.

The ischemic damage may occur during organ transplantation either to the organ or the patient.

Preferably, the Formula I compound, a prodrug thereof, or a pharmaceutically acceptable salt of said compound or of said prodrug is administered prior to, during and/or shortly after cardiac surgery or non-cardiac surgery.

In one aspect of this invention the Formula I compound, a prodrug thereof, or a pharmaceutically acceptable salt of said compound or of said prodrug is administered locally.

008240.25400209

A preferred dosage is about 0.01 to 100 mg/kg/day of the Formula I compound, a prodrug thereof, or a pharmaceutically acceptable salt of said compound or of said prodrug. An especially preferred dosage is about 0.01 to 50 mg/kg/day of the Formula I compound, a prodrug thereof, or a pharmaceutically acceptable salt of said compound or of said prodrug.

Another aspect of this invention is directed to a method of reducing myocardial tissue damage (e.g., substantially preventing tissue damage, inducing tissue protection) during surgery (e.g., coronary artery bypass grafting (CABG) surgeries, vascular surgeries, percutaneous transluminal coronary angioplasty (PTCA), organ transplantation, or other non-cardiac surgeries) comprising administering to a mammal (e.g., a female or male human) a therapeutically effective amount of the Formula I compound, a prodrug thereof, or a pharmaceutically acceptable salt of said compound or of said prodrug.

Another aspect of this invention is directed to a method of reducing myocardial tissue damage (e.g., substantially preventing tissue damage, inducing tissue protection) in patients presenting with ongoing cardiac (acute coronary syndromes, e.g. myocardial infarction or unstable angina) or cerebral ischemic events (e.g., stroke) comprising administering to a mammal (e.g., a female or male human) a therapeutically effective amount of the Formula I compound, a prodrug thereof, or a pharmaceutically acceptable salt of said compound or of said prodrug.

Another aspect of this invention is directed to a chronic method of reducing myocardial tissue damage (e.g., substantially preventing tissue damage, inducing tissue protection) in a patient with diagnosed coronary heart disease (e.g., previous myocardial infarction or unstable angina) or patients who are at high risk for myocardial infarction (e.g., age > 65 and two or more risk factors for coronary heart disease) comprising administering to a mammal (e.g., a female or male human) a therapeutically effective amount of the Formula I compound, a prodrug thereof, or a pharmaceutically acceptable salt of said compound or of said prodrug.

Another aspect of this invention is directed to a method of preventing ischemic damage comprising the chronic oral administration to a mammal in need of such treatment a therapeutically effective amount of the Formula I compound, a prodrug thereof, or a pharmaceutically acceptable salt of said compound or of said prodrug.

60200432.042800

27

Another aspect of this invention is directed to a method for treating cardiovascular diseases comprising administering to a mammal (e.g., a female or male human) a therapeutically effective amount of the Formula I compound, a prodrug thereof, or a pharmaceutically acceptable salt of said compound or of said prodrug.

Another aspect of this invention is directed to a method for treating arteriosclerosis comprising administering to a mammal (e.g., a female or male human) a therapeutically effective amount of the Formula I compound, a prodrug thereof, or a pharmaceutically acceptable salt of said compound or of said prodrug.

Another aspect of this invention is directed to a method for treating hypertension comprising administering to a mammal (e.g., a female or male human) a therapeutically effective amount of the Formula I compound, a prodrug thereof, or a pharmaceutically acceptable salt of said compound or of said prodrug.

Another aspect of this invention is directed to a method for treating arrhythmia comprising administering to a mammal (e.g., a female or male human) a therapeutically effective amount of the Formula I compound, a prodrug thereof, or a pharmaceutically acceptable salt of said compound or of said prodrug.

Another aspect of this invention is directed to a method for treating angina pectoris comprising administering to a mammal (e.g., a female or male human) a therapeutically effective amount of the Formula I compound, a prodrug thereof, or a pharmaceutically acceptable salt of said compound or of said prodrug.

Another aspect of this invention is directed to a method for treating cardiac hypertrophy comprising administering to a mammal (e.g., a female or male human) a therapeutically effective amount of the Formula I compound, a prodrug thereof, or a pharmaceutically acceptable salt of said compound or of said prodrug.

Another aspect of this invention is directed to a method for treating renal diseases comprising administering to a mammal (e.g., a female or male human) a therapeutically effective amount of the Formula I compound, a prodrug thereof, or a pharmaceutically acceptable salt of said compound or of said prodrug.

Another aspect of this invention is directed to a method for treating diabetic complications comprising administering to a mammal (e.g., a female or male human) a therapeutically effective amount of the Formula I compound, a prodrug thereof, or a pharmaceutically acceptable salt of said compound or of said prodrug.

60200132-042800

Another aspect of this invention is directed to a method for treating restenosis comprising administering to a mammal (e.g., a female or male human) a therapeutically effective amount of the Formula I compound, a prodrug thereof, or a pharmaceutically acceptable salt of said compound or of said prodrug.

5 Another aspect of this invention is directed to a method for treating diseases of cell proliferation comprising administering to a mammal (e.g., a female or male human) a therapeutically effective amount of the Formula I compound, a prodrug thereof, or a pharmaceutically acceptable salt of said compound or of said prodrug.

10 Another aspect of this invention is directed to a method for treating cancerous diseases comprising administering to a mammal (e.g., a female or male human) a therapeutically effective amount of the Formula I compound, a prodrug thereof, or a pharmaceutically acceptable salt of said compound or of said prodrug.

15 Another aspect of this invention is directed to a method for treating fibrotic diseases comprising administering to a mammal (e.g., a female or male human) a therapeutically effective amount of the Formula I compound, a prodrug thereof, or a pharmaceutically acceptable salt of said compound or of said prodrug.

20 Another aspect of this invention is directed to a method for treating glomerular nephrosclerosis comprising administering to a mammal (e.g., a female or male human) a therapeutically effective amount of the Formula I compound, a prodrug thereof, or a pharmaceutically acceptable salt of said compound or of said prodrug.

25 Another aspect of this invention is directed to a method for treating pulmonary fibrosis comprising administering to a mammal (e.g., a female or male human) a therapeutically effective amount of the Formula I compound, a prodrug thereof, or a pharmaceutically acceptable salt of said compound or of said prodrug.

Another aspect of this invention is directed to a method for treating cerebro ischemic disorders comprising administering to a mammal (e.g., a female or male human) a therapeutically effective amount of the Formula I compound, a prodrug thereof, or a pharmaceutically acceptable salt of said compound or of said prodrug.

30 Another aspect of this invention is directed to a method for treating myocardial stunning comprising administering to a mammal (e.g., a female or male human) a therapeutically effective amount of the Formula I compound, a prodrug thereof, or a pharmaceutically acceptable salt of said compound or of said prodrug.

60200432.042800

Another aspect of this invention is directed to a method for treating myocardial dysfunction comprising administering to a mammal (e.g., a female or male human) a therapeutically effective amount of the Formula I compound, a prodrug thereof, or a pharmaceutically acceptable salt of said compound or of said prodrug.

Another aspect of this invention is directed to a method for treating cerebrovascular diseases comprising administering to a mammal (e.g., a female or male human) a therapeutically effective amount of the Formula I compound, a prodrug thereof, or a pharmaceutically acceptable salt of said compound or of said prodrug.

Another aspect of this invention is directed to a method for treating organ hypertrophies or hyperplasias comprising administering to a mammal (e.g., a female or male human) a therapeutically effective amount of the Formula I compound, a prodrug thereof, or a pharmaceutically acceptable salt of said compound or of said prodrug.

This invention is also directed to pharmaceutical compositions which comprise an amount of the Formula I compound, a prodrug thereof, or a pharmaceutically acceptable salt of said compound or of said prodrug and a pharmaceutically acceptable carrier, vehicle or diluent.

This invention is also directed to pharmaceutical compositions for the reduction of tissue damage resulting from ischemia which comprise a therapeutically effective amount of the Formula I compound, a prodrug thereof, or a pharmaceutically acceptable salt of said compound or of said prodrug and a pharmaceutically acceptable carrier, vehicle or diluent.

The term "reduction" is intended to include partial prevention or prevention which, although greater than that which would result from taking no compound or from taking a placebo, is less than 100%, in addition to substantially total prevention.

The term "damage resulting from ischemia" as employed herein refers to conditions directly associated with reduced blood flow to tissue, for example due to a clot or obstruction of blood vessels which supply blood to the subject tissue and which result, inter alia, in lowered oxygen transport to such tissue, impaired tissue performance, tissue dysfunction and/or necrosis. Alternatively, where blood flow or organ perfusion may be quantitatively adequate, the oxygen carrying capacity of

008240-2E700209

20
20

the blood or organ perfusion medium may be reduced, e.g., in hypoxic environment, such that oxygen supply to the tissue is lowered, and impaired tissue performance, tissue dysfunction, and/or tissue necrosis ensues.

The term "treating", "treat" or "treatment" as used herein includes
5 preventative (e.g., prophylactic) and palliative treatment.

The expression "pharmaceutically-acceptable salt" refers to nontoxic anionic salts containing anions such as (but not limited to) chloride, bromide, iodide, sulfate, bisulfate, phosphate, acetate, maleate, fumarate, oxalate, lactate, tartrate, citrate, gluconate, methanesulfonate (mesylate) and 4-toluene-sulfonate. Since more than
10 one basic moiety exists the expression may include multiple salts (e.g., di-salt). The expression also refers to nontoxic cationic salts such as (but not limited to) sodium, potassium, calcium, magnesium, ammonium or protonated benzathine (N,N'-dibenzylethylenediamine), choline, ethanolamine, diethanolamine, ethylenediamine, meglumine (N-methyl-glucamine), benethamine (N-benzylphenethylamine),
15 piperazine or tromethamine (2-amino-2-hydroxymethyl-1,3-propanediol).

The expression "prodrug" refers to compounds that are drug precursors which following administration, release the drug *in vivo* via some chemical or physiological process (e.g., a prodrug on being brought to the physiological pH or through enzyme action is converted to the desired drug form). Again, there is a proviso that [5-
20 cyclopropyl-1-(quinolin-5-yl)-1H-pyrazole-4-carbonyl]guanidine is not included.

By "pharmaceutically acceptable" it is meant the carrier, diluent, excipients, and/or salt must be compatible with the other ingredients of the formulation, and not deleterious to the recipient thereof.

As used herein, the expressions "reaction-inert solvent" and "inert solvent"
25 refers to a solvent or mixture of solvents which does not interact with starting materials, reagents, intermediates or products in a manner which adversely affects the yield of the desired product.

It will be recognized that the compound of this invention can exist in radiolabelled form, i.e., the compound may contain one or more atoms containing
30 an atomic mass or mass number different from the atomic mass or mass number ordinarily found in nature. Radioisotopes of hydrogen and carbon include ^3H , ^3H , and ^{14}C respectively. A compound of this invention, which contains these radioisotopes and/or other radioisotopes of other atoms are within the scope of this invention. Tritiated, i.e., ^3H , and carbon-14, i.e., ^{14}C , radioisotopes are particularly

008240-2240200

preferred for their ease of preparation and detectability. A radiolabelled Formula I compound can generally be prepared by methods well known to those skilled in the art. Conveniently, such radiolabelled compounds can be prepared by carrying out the procedures disclosed in the Schemes and/or in the Examples below by substituting a readily available radiolabelled reagent for a non-radiolabelled reagent.

Other features and advantages will be apparent from the specification and claims which describe the invention.

DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

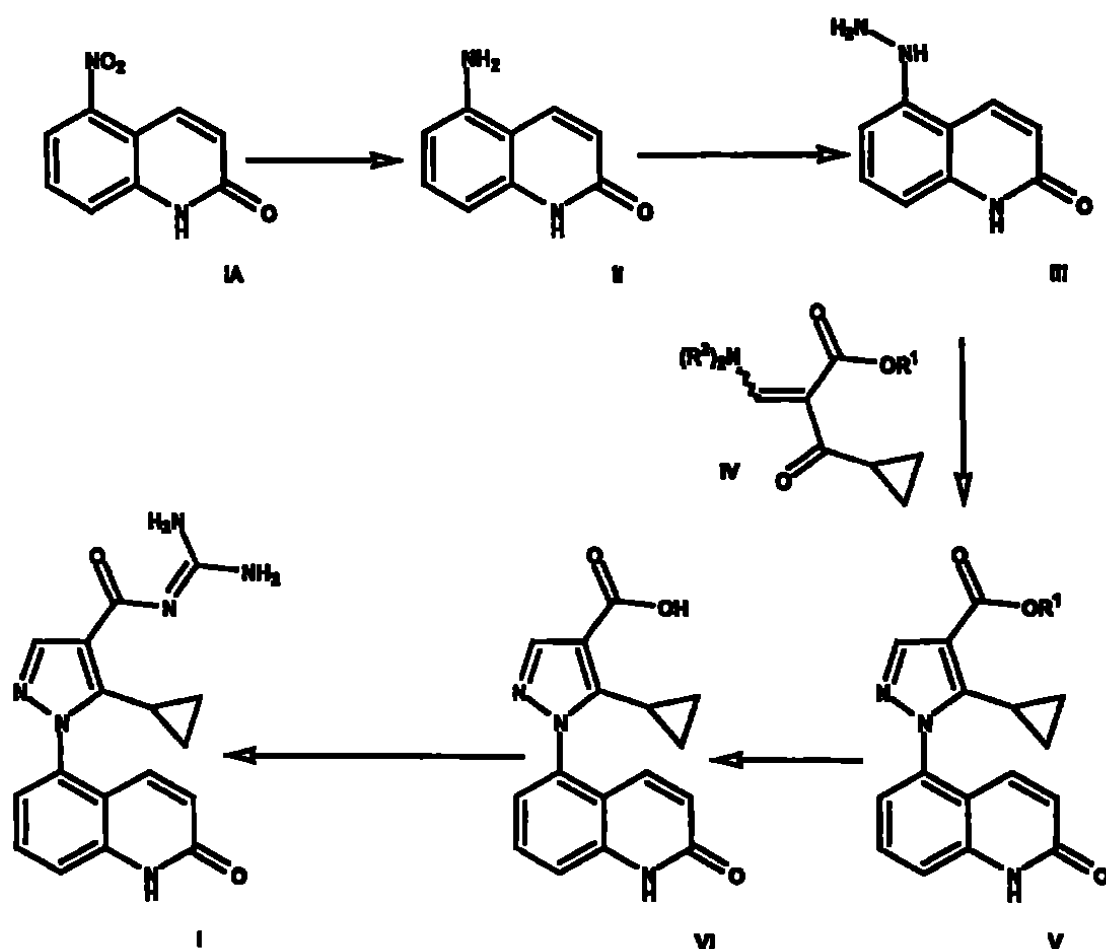
10 The compound of Formula I is a human metabolite of 5-cyclopropyl-1-(quinolin-5-yl)-1H-pyrazole-4-carbonylguanidine. It was identified from samples of human plasma obtained after intravenous administration of 5-cyclopropyl-1-(quinolin-5-yl)-1H-pyrazole-4-carbonylguanidine to human subjects. The structure of this compound was independently verified by chemical synthesis. In another aspect of this invention [5-cyclopropyl-1-(2-quinolin-5-yl)-1H-pyrazole-4-carbonyl]guanidine may be prepared by administering [5-cyclopropyl-1-(quinolin-5-yl)-1H-pyrazole-4-carbonyl]guanidine to a human and isolating the desired metabolite from the plasma. Alternatively, the metabolite need not be isolated from the human since it is produced in vivo.

20 In general the compound of this invention can be made by processes which include processes analogous to those known in the chemical arts, particularly in light of the description contained herein. Certain processes for the manufacture of the compound of this invention are provided as further features of the invention and are illustrated by the following reaction scheme. Other processes are described in the experimental section.

25 A detailed description of the synthetic aspect of the invention follows:

60200132-042800

22
2/7



According to the scheme above, the formula IA compound (prepared as described in Cappe, J. D.; Hamilton, C. S. *J. Am. Chem. Soc.* 1938, 60, 2104) is dissolved in a protic solvent such as ethanol and treated with an appropriate reducing agent such as stannous chloride dihydrate. The resulting mixture is stirred at a temperature of about 0 °C to about 115 °C for about 30 minutes to about 24 hours. The resulting mixture is cooled to about 23 °C and filtered. The resulting solid material is purified in a suitable way, such as by triturating with hydrochloric acid (for example, 1 M aqueous) at about 100 °C for about 1 hour, cooling to about 23 °C and filtering to provide the formula II compound as its hydrochloride salt. Alternatively, the formula II compound can be isolated from the reaction mixture as the free base by basifying with an inorganic base, and extracting with an appropriate organic solvent. The formula II compound can also be isolated as other salts. Other reduction methods that will perform this reduction

23 ~~23~~

are known to those skilled in the art, such as for example catalytic hydrogenation.

The formula II compound is diazotized in hydrochloric acid and water using sodium nitrite at about 0 °C for about 15 minutes to about 2 hours. The resulting diazonium salt solution is reduced with an appropriate reducing agent, such as stannous chloride dihydrate in hydrochloric acid and water at about 0 °C to about 23 °C for about 30 minutes to about 6 hours. The resulting solid is collected by filtration and purified in a suitable manner, such as by trituration with hydrochloric acid (for example, 1 M aqueous) at about 23 °C for about 30 minutes. The compound of formula III is collected by filtration as its hydrochloride salt.

Alternatively, the formula III compound can be isolated from the reaction mixture as the free base by basifying, with an inorganic base, and extracting with an appropriate organic solvent. The formula III compound can also be isolated as other salts. Other reducing agents that will perform this transformation are known to those skilled in the art.

The formula IV compound is prepared by methods known to those skilled in the art, such as by the reaction of an N,N-dialkylformamide dialkylacetal, for example, N,N-dimethylformamide dimethylacetal with an ester of 3-cyclopropyl-3-oxopropanoic acid at a temperature of about 23 °C to about 115 °C for about 1 hour to about 4 hours with or without an acid catalyst. The group R¹ and R² are conveniently any alkyl, cycloalkyl, cycloalkylalkyl, or arylalkyl group. Furthermore, the two R² groups may be tethered together to form a cyclic entity.

The formula IV compound is reacted with the formula III compound in an alcoholic solvent such as ethanol at a temperature of about 23 °C to about 115 °C for about 15 minutes to about 12 hours. When the formula III compound is used as its hydrochloride salt, it is advantageous to carry out the reaction in the presence of an excess of a non-nucleophilic base, such as triethylamine. The formula V compound is collected by filtration. Alternatively, the formula V compound may be isolated by other methods such as concentration followed by addition of water and extraction with a suitable organic solvent. Alternatively, the formula V compound may be prepared using the formula III compound and other compounds in place of the formula IV compound, such as a compound in which the (R²)₂N group is replaced by a R²O group.

The formula V compound is hydrolyzed with a base such as sodium or lithium hydroxide in a solvent such as water, and/or methanol, and/or THF conveniently at about 23 °C or at an elevated temperature such as at reflux

008240-2E400209

temperature for about 30 minutes to about 12 hours. The formula VI acid is then isolated by, for example, removing the organic solvents, acidifying and filtering. Alternatively, the formula VI compound can be isolated from the reaction mixture by removing the organic solvents, acidifying and extracting with an appropriate organic solvent.

The Formula VI acid is coupled with guanidine in the presence of a suitable coupling agent. A suitable coupling agent is one which transforms a carboxylic acid into a reactive species which forms an amide linkage on reaction with an amine.

The coupling agent may be a reagent which effects this condensation in a one pot process when mixed together with the carboxylic acid and guanidine. Exemplary coupling reagents are 1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimide hydrochloride-hydroxybenzotriazole (EDC/HBT), dicyclohexylcarbodiimide (DCC)/hydroxybenzotriazole(HBT), 2-ethoxy-1-ethoxycarbonyl-1,2-dihydroquinoline (EEDQ), and diethylphosphorylcyanide. The coupling is performed in an inert solvent, preferably an aprotic solvent at a temperature of about -20°C to about 50°C for about 1 to about 48 hours, in the presence of excess guanidine as base. Exemplary solvents include acetonitrile, dichloromethane, dimethylsulfoxide, dimethylformamide, chloroform and mixtures thereof.

The coupling agent may also be that agent which converts the carboxylic acid to an activated intermediate which is isolated and/or formed in a first step and allowed to react with guanidine in a second step. Examples of such coupling agents and activated intermediates are thionyl chloride or oxalyl chloride to form the acid chloride, cyanuric fluoride to form an acid fluoride or an alkyl chloroformate such as isobutyl or isopropenyl chloroformate or propanephosphonic anhydride (propanephosphonic acid anhydride, PPA) with a tertiary amine base to form a mixed anhydride of the carboxylic acid, or carbonyldiimidazole to form an acylimidazole. If the coupling agent is oxalyl chloride, it is advantageous to employ a small amount of dimethylformamide as cosolvent with another solvent (such as dichloromethane) to catalyze the formation of the acid chloride. This activated acid derivative may be coupled by mixing with the intermediate in an appropriate solvent together with an appropriate base. Appropriate solvent/base combinations are for example, dichloromethane, dimethylformamide or acetonitrile or mixtures thereof in the presence of excess guanidine as base. Other appropriate solvent/base combinations include water or a ((C₁-C₄)alcohol) or a mixture thereof together with a cosolvent such as dichloromethane, tetrahydrofuran or dioxane and a base such

008240-2200209

25
JK

as sodium, potassium or lithium hydroxide in sufficient quantity to consume the acid liberated in the reaction. Use of these coupling agents and appropriate selection of solvents and temperatures are known to those skilled in the art or can be readily determined from the literature in light of this disclosure. These and other exemplary conditions useful for coupling carboxylic acids are described in Houben-Weyl, Vol XV, part II, E. Wunsch, Ed., G. Thieme Verlag, 1974, Stuttgart; M. Bodansky, Principles of Peptide Synthesis, Springer-Verlag, Berlin 1984; and The Peptides, Analysis, Synthesis and Biology (ed. E. Gross and J. Melnikofer), vols 1-5 (Academic Press, NY 1979-1983).

In one embodiment, the formula VI acid is activated with excess thionyl chloride at a temperature of about reflux temperature for about 15 minutes to about 3 hours and the excess thionyl chloride is removed by concentration. The resulting acid chloride is combined with excess guanidine hydrochloride and an inorganic base, such as sodium hydroxide in tetrahydrofuran and water. The reaction is stirred conveniently at 23 °C or at an elevated temperature, such as reflux temperature, for about 30 minutes to about 6 hours. The formula I compound is isolated from this reaction mixture in a variety of ways. For example, the reaction mixture is concentrated to remove the THF; the aqueous layer is acidified to pH 8, and the solid is collected by filtration. Alternatively, the formula I compound may be isolated by extraction with an organic solvent. The formula I compound may be transformed to the corresponding hydrochloride salt by treating a solution of it in methanol with hydrogen chloride in ether, and collection of the resulting solid by filtration or concentration. Other salts may be prepared by analogous methods.

Those skilled in the art will recognize that it is also possible to transform the formula V compound directly to the formula I compound by treating the formula V compound with excess guanidine in an inert solvent, such as an alcoholic solvent, for example ethanol, or in the absence of a solvent, at about 60 °C to about 150 °C.

Those skilled in the art will recognize that the Formula I compound can exist in several tautomeric forms. All such tautomeric forms are considered as part of this invention. For example, all of the tautomeric forms of the carbonylguanidine moiety of the Formula I compound are included in this invention. All tautomeric forms of the 2-quinolone moiety of the Formula I compound, such as the 2-hydroxyquinoline form, are also included in this invention.

The starting materials and reagents for the above described compounds, are also readily available or can be easily synthesized by those skilled in the art.

50200432-042800

26
7

using conventional methods of organic synthesis.

In addition, when the compound of this invention forms metabolites, hydrates or solvates they are also within the scope of the invention.

Some of the compounds (e.g., prodrugs) of this invention are acidic and they
5 form a salt with a pharmaceutically acceptable cation. Most of the compounds of this invention are basic and they form a salt with a pharmaceutically acceptable anion. All such salts, including di- salts are within the scope of this invention and they can be prepared by conventional methods. For example, they can be prepared simply by contacting the acidic and basic entities, in either an aqueous, non-aqueous or
10 partially aqueous medium. The salts are recovered either by filtration, by precipitation with a solvent followed by filtration, by evaporation of the solvent, or, in the case of aqueous solutions, by lyophilization, as appropriate.

The Formula I compound, a prodrug thereof, or a pharmaceutically acceptable salt of said compound or of said prodrug inhibits the sodium/proton
15 (Na⁺/H⁺) exchange transport system and hence is useful as a therapeutic or prophylactic agent for diseases caused by the acceleration of the sodium/proton (Na⁺/H⁺) exchange transport system, for example, cardiovascular diseases (e.g., arteriosclerosis, hypertension, arrhythmia (e.g., ischemic arrhythmia, arrhythmia due to myocardial infarction, arrhythmia after PTCA or after thrombolysis, etc.),
20 angina pectoris, cardiac hypertrophy, myocardial infarction, heart failure (e.g., congestive heart failure, acute heart failure, cardiac hypertrophy, etc.), restenosis after PTCA, shock (e.g. hemorrhagic shock, endotoxin shock, etc.)), renal diseases (e.g., diabetes mellitus, diabetic nephropathy, ischemic acute renal failure, etc.) organ disorders associated with ischemia or ischemic reperfusion [(e.g., heart
25 muscle ischemic reperfusion associated disorders, acute renal failure, or disorders induced by surgical treatment such as coronary artery bypass grafting (CABG) surgeries, vascular surgeries, organ transplantation, non-cardiac surgeries or percutaneous transluminal coronary angioplasty (PTCA)], cerebrovascular diseases (e.g., ischemic stroke, hemorrhagic stroke, etc.), cerebro ischemic
30 disorders (e.g., disorders associated with cerebral infarction, disorders caused after cerebral apoplexy as sequelae, or cerebral edema). The Formula I compound, a prodrug thereof, or a pharmaceutically acceptable salt of said compound or of said prodrug can also be used as an agent for myocardial protection during coronary artery bypass-grafting (CABG) surgeries, vascular surgeries, percutaneous

60200432.042800

27 3/2

transluminal coronary angioplasty (PTCA), organ transplantation, or non-cardiac surgeries.

5 Preferably, the Formula I compound, a prodrug thereof, or a pharmaceutically acceptable salt of said compound or of said prodrug can be used as agents for myocardial protection before, during, or after coronary artery bypass grafting (CABG) surgeries, vascular surgeries, percutaneous transluminal coronary angioplasty (PTCA), organ transplantation, or non-cardiac surgeries.

10 Preferably, the Formula I compound, a prodrug thereof, or a pharmaceutically acceptable salt of said compound or of said prodrug can be used as agents for myocardial protection in patients presenting with ongoing cardiac (acute coronary syndromes, e.g., myocardial infarction or unstable angina) or cerebral ischemic events (e.g., stroke).

15 Preferably, the Formula I compound, a prodrug thereof, or a pharmaceutically acceptable salt of said compound or of said prodrug can be used as agents for chronic myocardial protection in patients with diagnosed coronary heart disease (e.g., previous myocardial infarction or unstable angina) or patients who are at high risk for myocardial infarction (e.g., age greater than 65 and two or more risk factors for coronary heart disease).

20 In addition to this, the Formula I compound, a prodrug thereof, or a pharmaceutically acceptable salt of said compound or of said prodrug are notable for their strong inhibitory effect on the proliferation of cells, for example the proliferation of fibroblast cells and the proliferation of the smooth muscle cells of the blood vessels. For this reason, the Formula I compound, a prodrug thereof, or a pharmaceutically acceptable salt of said compound or of said prodrug are valuable,
25 therapeutic agents for use in diseases in which cell proliferation represents a primary or secondary cause and may, therefore, be used as antiatherosclerotic agents, and as agents against diabetic late complications, cancerous diseases, fibrotic diseases such as pulmonary fibrosis, hepatic fibrosis or renal fibrosis, glomerular nephrosclerosis, organ hypertrophies or hyperplasias, in particular
30 hyperplasia or hypertrophy of the prostate, pulmonary fibrosis, diabetic complications or recurrent stricture after PTCA, or diseases caused by endothelial cell injury.

The utility of the Formula I compound, a prodrug thereof, or a pharmaceutically acceptable salt of said compound or of said prodrug as medical

008270-22.00209

28
2

agents in the treatment of diseases, such as are detailed herein in mammals (e.g., humans) for example, myocardial protection during surgery or myocardial protection in patients presenting with ongoing cardiac or cerebral ischemic events or chronic cardioprotection in patients with diagnosed coronary heart disease, is

5 demonstrated by the activity of the Formula I compound, or a pharmaceutically acceptable salt of said compound in conventional in vitro and other preclinical cardioprotection assays [see the in vivo assay in Klein, H. et al., Circulation 92:912-917 (1995); the isolated heart assay in Scholz, W. et al., Cardiovascular Research 29:260-268 (1995); the antiarrhythmic assay in Yasutake M. et al., Am. J. Physiol., 10 36:H2430-H2440 (1994); the NMR assay in Kolke et al., J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 112: 765-775 (1996)]. Such assays also provide a means whereby the activities of the Formula I compound, or a pharmaceutically acceptable salt of said compound or of said prodrug can be compared with the activities of other known compounds. The results of these comparisons are useful for determining dosage 15 levels in mammals, including humans, for the treatment of such diseases.

Measurement of Human NHE-1 Inhibitory Activity

Methodologies for measurement of human NHE-1 activity and inhibitor potency are based on those published by Watson et al., Am. J. Physiol., 24:G229-G238, 1991), where NHE-mediated recovery of intracellular pH is measured following 20 intracellular acidification. Thus, fibroblasts stably expressing human NHE-1 (Counillon, L. et al., Mol. Pharmacol., 44:1041-1045 (1993) are plated onto collagen coated 96 well plates (50,000/well) and grown to confluence in growth media (DMEM high glucose, 10% fetal bovine serum, 50 u/ml penicillin and streptomycin). Confluent plates are incubated for 30 min at 37°C with the pH sensitive fluorescent 25 probe BCECF (5 µM; Molecular Probes, Eugene, OR). BCECF loaded cells are incubated for 30 min at 37°C in acid loading media (70 mM choline chloride, 50 mM NH₄Cl, 5 mM KCl, 1 mM MgCl₂, 1.8 mM CaCl₂, 5 mM glucose, 10 mM HEPES, pH 7.5), and then placed in a Fluorescent Imaging Plate Reader (Molecular Devices, CA). BCECF fluorescence is monitored using excitation and emission wavelengths 30 of 485 nm and 525 nm, respectively. Intracellular acidification is initiated via rapid replacement of acid loading media with recovery media (120 mM NaCl, 5 mM KCl, 1 mM MgCl₂, 1.8 mM CaCl₂, 5 mM glucose, 10 mM HEPES, pH 7.5) ± test compound, and NHE-mediated recovery of intracellular pH is monitored as the subsequent time-dependent increase BCECF fluorescence. The potency of human NHE-1 inhibitors is _____

00824032-042800

29

calculated as the concentration that reduces recovery of intracellular pH by 50% (IC_{50}). Under these conditions reference NHE inhibitors amiloride and HOE-642 had IC_{50} values for human NHE-1 of 50 μ M and 0.5 μ M, respectively. The compound of Formula I demonstrated an IC_{50} value of 200nM in the above assay.

5 It has been reported that brief periods of myocardial ischemia followed by coronary artery reperfusion protects the heart from subsequent severe myocardial ischemia (Murry et al., Circulation 74:1124-1136, 1986). This phenomenon is known as ischemic preconditioning.

10 The therapeutic effects of the compounds of this invention in preventing heart tissue damage resulting from an ischemic insult can be demonstrated *in vitro* along lines presented in Liu et al. (Cardiovasc. Res., 28:1057-1081, 1994), as described specifically herein. Cardioprotection, as indicated by a reduction in infarcted myocardium, can be induced pharmacologically using adenosine receptor agonists in isolated, retrogradely perfused rabbit hearts as an *in vitro* model of myocardial
15 ischemic preconditioning (Liu et al., Cardiovasc. Res., 28:1057-1081, 1994). The *in vitro* test described below demonstrates that an active test compound can also pharmacologically induce cardioprotection, i.e., reduce myocardial infarct size, when administered to a rabbit isolated heart. The effects of the test compound are compared to ischemic preconditioning and the A1/A3 adenosine agonist, APNEA (N^6 -[2-(4-aminophenyl)ethyl]adenosine), that has been shown to pharmacologically
20 induce cardioprotection in the rabbit isolated heart (Liu et al., Cardiovasc. Res., 28:1057-1081, 1994). The exact methodology is described below.

The protocol used for these experiments closely follows that described by Liu et al., Cardiovasc. Res., 28:1057-1081, 1994. Male New Zealand White rabbits (3-4
25 kg) are anesthetized with sodium pentobarbital (30 mg/kg, i.v.). After deep anesthesia is achieved (determined by the absence of an ocular blink reflex) the animal is intubated and ventilated with 100% O_2 using a positive pressure ventilator. A left thoracotomy is performed, the heart exposed, and a snare (2-0 silk) is placed loosely around a prominent branch of the left coronary artery, approximately 2/3 of
30 the distance towards the apex of the heart. The heart is removed from the chest and rapidly (<30 sec) mounted on a Langendorff apparatus. The heart is retrogradely perfused in a non-recirculating manner with a modified Krebs solution (NaCl 118.5 mM, KCl 4.7 mM, $Mg SO_4$ 1.2 mM, KH_2PO_4 1.2 mM, $NaHCO_3$ 24.8 mM, $CaCl_2$ 2.5 mM, and glucose 10 mM), at a constant pressure of 80 mmHg and a temperature of

008240-2800209

37°C. Perfusate pH is maintained at 7.4-7.5 by bubbling with 95% O₂/5% CO₂. Heart temperature is tightly controlled by using heated reservoirs for the physiological solution and water jacketing around both the perfusion tubing and the isolated heart. Heart rate and left ventricular pressures are determined via a latex balloon which is inserted in the left ventricle and connected by stainless steel tubing to a pressure transducer. The intraventricular balloon is inflated to provide a systolic pressure of 80-100 mmHg, and a diastolic pressure $\leq$ 10 mmHg. Total coronary flow is also continuously monitored using an in-line flow probe and normalized for heart weight.

The heart is allowed to equilibrate for 30 min, over which time the heart must show stable left ventricular pressures within the parameters outlined above. If the heart rate falls below 180 bpm at any time prior to the 30 min period of regional ischemia, the heart is paced at about 200 bpm for the remainder of the experiment. Ischemic preconditioning is induced by total cessation of cardiac perfusion (global ischemia) for 5 min, followed by reperfusion for 10 min. The regional ischemia is provided by tightening the snare around the coronary artery branch. Following the 30 min regional ischemia, the snare is released and the heart reperfused for an additional 120 min.

Pharmacological cardioprotection is induced by infusing the test compound at predetermined concentrations, starting 30 min prior to the 30 min regional ischemia, and continuing until the end of the 120 min reperfusion period. Hearts which receive test compound do not undergo the period of ischemic preconditioning. The reference compound, APNEA (500 nM) is perfused through hearts (which do not receive the test compound) for a 5 min period which ends 10 min before the 30 min regional ischemia.

At the end of the 120 min reperfusion period, the coronary artery snare is tightened, and a 0.5% suspension of fluorescent zinc cadmium sulfate particles (1-10 μ M) Duke Scientific Corp. (Palo Alto, CA) is perfused through the heart; this stains all of the myocardium, except that area-at-risk for infarct development (area-at-risk). The heart is removed from the Langendorff apparatus, blotted dry, wrapped in aluminum foil and stored overnight at -20°C. The next day, the heart is sliced into 2 mm transverse sections from the apex to the top of the ventricles. The slices are stained with 1% triphenyl tetrazolium chloride (TTC) in phosphate-buffered saline for 20 min at 37°C. Since TTC reacts with living tissue (containing NAD-dependent dehydrogenases); this stain differentiates between living (red stained) tissue; and

008240-2E00209

dead tissue (unstained infarcted tissue). The infarcted area (no stain) and the area-at-risk (no fluorescent particles) are calculated for each slice of left ventricle using a precalibrated image analyzer. To normalize the ischemic injury for differences in the area-at-risk between hearts, the data is expressed as the ratio of infarct area vs.

5 area-at-risk (%IA/AAR). All data are expressed as mean $\pm$ SE and compared statistically using a Mann-Whitney non-parametric test with a Bonferroni correction for multiple comparisons. Significance is considered as $p < 0.05$.

10 The results from the above *in vitro* test can be used to demonstrate that compounds of this invention induce significant cardioprotection relative to the control group.

Administration of the Formula I compound, a prodrug thereof, or a pharmaceutically acceptable salt of said compound or of said prodrug can be via any method which delivers the Formula I compound, a prodrug thereof, or a pharmaceutically acceptable salt of said compound or of said prodrug preferentially
15 to the desired tissue (e.g., liver and/or cardiac tissues). These methods include oral routes, parenteral, intraduodenal routes, etc. Generally, the Formula I compound, a prodrug thereof, or a pharmaceutically acceptable salt of said compound or of said prodrug is administered in single (e.g., once daily) or multiple doses or via constant infusion in, for example, an isotonic saline solution.

20 The Formula I compound, a prodrug thereof, or a pharmaceutically acceptable salt of said compound or of said prodrug is useful, for example, in reducing or minimizing damage effected directly to any tissue that may be susceptible to ischemia/reperfusion injury (e.g., heart, brain, lung, kidney, liver, gut, skeletal muscle, retina), through for example mediation by NHE-1, as the result of
25 an ischemic event (e.g., myocardial infarction). The active compound is therefore usefully employed prophylactically to prevent, (i.e., prospectively or prophylactically) to blunt or stem, tissue damage (e.g., myocardial tissue) in patients who are at risk for ischemia (e.g., myocardial ischemia).

Generally, the Formula I compound, a prodrug thereof, or a
30 pharmaceutically acceptable salt of said compound or of said prodrug of this invention is administered orally, or parenterally (e.g., intravenous, intramuscular, subcutaneous or intramedullary). Topical administration may also be indicated, for example, where the patient is suffering from gastrointestinal disorders or whenever

008240-2E0209

32
7/1

the medication is best applied to the surface of a tissue or organ as determined by the attending physician.

The amount and timing of the Formula I compound, a prodrug thereof, or a pharmaceutically acceptable salt of said compound or of said prodrug administered will, of course, be dependent on the subject being treated, on the severity of the affliction, on the manner of administration and on the judgement of the prescribing physician. Thus, because of patient to patient variability, the dosages given below are a guideline and the physician may titrate doses of the drug to achieve the treatment that the physician considers appropriate for the patient. In considering the degree of treatment desired, the physician must balance a variety of factors such as age of the patient, presence of preexisting disease, as well as presence of other diseases (e.g., cardiovascular disease).

Typically an amount of the Formula I compound, a prodrug thereof, or a pharmaceutically acceptable salt of said compound or of said prodrug is used that is effective for ischemic protection. A preferred dosage is about 0.01 to 100 mg/kg/day of the Formula I compound, a prodrug thereof, or a pharmaceutically acceptable salt of said compound or of said prodrug of this invention. An especially preferred dosage is about 0.01 to 50 mg/kg/day of the Formula I compound, a prodrug thereof, or a pharmaceutically acceptable salt of said compound or of said prodrug of this invention.

In one mode of administration the Formula I compound, a prodrug thereof, or a pharmaceutically acceptable salt of said compound or of said prodrug may be administered just prior to cardiac surgery (e.g., within twenty-four hours before surgery), during or subsequent to cardiac surgery (e.g., within twenty-four hours after surgery) where there is risk of myocardial ischemia. In an especially preferred mode an infusion is administered with a loading dose of about 1 mg to about 300 mg for about one minute to about one hour prior to surgery followed by a constant infusion of about 1 mg/kg/day to about 100 mg/kg/day for the remaining presurgery, surgery and post surgery periods, including for example about 2 to about 7 days post surgical treatment. The compound of this invention may also be administered in a chronic daily mode.

The Formula I compound, a prodrug thereof, or a pharmaceutically acceptable salt of said compound or of said prodrug is generally administered in the form of a pharmaceutical composition comprising the Formula I compound, a

008240-2200209

33
✱

prodrug thereof, or a pharmaceutically acceptable salt of said compound or of said prodrug together with a pharmaceutically acceptable vehicle, carrier or diluent.

Thus, the Formula I compound, a prodrug thereof, or a pharmaceutically acceptable salt of said compound or of said prodrug can be administered in any conventional oral, parenteral, rectal or transdermal dosage form.

For oral administration a pharmaceutical composition can take the form of solutions, suspensions, tablets, pills, capsules, powders, and the like. Tablets containing various excipients such as sodium citrate, calcium carbonate and calcium phosphate are employed along with various disintegrants such as starch and preferably potato or tapioca starch and certain complex silicates, together with binding agents such as polyvinylpyrrolidone, sucrose, gelatin and acacia.

Additionally, lubricating agents such as magnesium stearate, sodium lauryl sulfate and talc are often very useful for tabletting purposes. Solid compositions of a similar type are also employed as fillers in soft and hard-filled gelatin capsules; preferred materials in this connection also include lactose or milk sugar as well as high molecular weight polyethylene glycols. When aqueous suspensions and/or elixirs are desired for oral administration, the compounds of this invention can be combined with various sweetening agents, flavoring agents, coloring agents, emulsifying agents and/or suspending agents, as well as such diluents as water, ethanol, propylene glycol, glycerin and various like combinations thereof.

For purposes of parenteral administration, solutions, for example, in sesame or peanut oil or in aqueous propylene glycol can be employed, as well as sterile aqueous solutions of the corresponding water-soluble salts. Such aqueous solutions may be suitably buffered, if necessary, and the liquid diluent first rendered isotonic with sufficient saline or glucose. These aqueous solutions are especially suitable for intravenous, intramuscular, subcutaneous and intraperitoneal injection purposes. In this connection, the sterile aqueous media employed are all readily obtainable by standard techniques well-known to those skilled in the art.

For purposes of transdermal (e.g., topical) administration, dilute sterile, aqueous or partially aqueous solutions (usually in about 0.1% to 5% concentration), otherwise similar to the above parenteral solutions, are prepared.

Methods of preparing various pharmaceutical compositions with a certain amount of active ingredient are known, or will be apparent in light of this disclosure, to those skilled in this art. For examples of methods of preparing pharmaceutical

008240-2210209

compositions, see Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easter, Pa., 15th Edition (1975).

Pharmaceutical compositions according to the invention may contain for example 0.0001%-95% of the Formula I compound, a prodrug thereof, or a pharmaceutically acceptable salt of said compound or of said prodrug. In any event, the composition or formulation to be administered will contain an amount effective to treat the disease/condition of the subject being treated.

The Formula I compound, a prodrug thereof, or a pharmaceutically acceptable salt of said compound or of said prodrug generally will be administered in a convenient formulation. The following formulation examples are illustrative only and are not intended to limit the scope of the present invention.

In the formulations which follow, "active ingredient" means the Formula I compound, a prodrug thereof, or a pharmaceutically acceptable salt of said compound or of said prodrug.

15 **Formulation 1: Gelatin Capsules**

Hard gelatin capsules are prepared using the following:

Ingredient	Quantity (mg/capsule)
Active ingredient	0.25-100
Starch, NF	0-650
Starch flowable powder	0-60
Silicone fluid 350 centistokes	0-15

A tablet formulation is prepared using the ingredients below:

Formulation 2: Tablets

Ingredient	Quantity (mg/tablet)
Active ingredient	0.25-100
Cellulose, microcrystalline	200-650
Silicon dioxide, fumed	10-650
Stearate acid	5-15

The components are blended and compressed to form tablets.

20 Alternatively, tablets each containing 0.25-100 mg of active ingredients are made up as follows:

008240-2E00209

35 ~~3~~

Formulation 3: Tablets

Ingredient	Quantity (mg/tablet)
Active ingredient	0.25-100
Starch	45
Cellulose, microcrystalline	35
Polyvinylpyrrolidone (as 10% solution in water)	4
Sodium carboxymethyl cellulose	4.5
Magnesium stearate	0.5
Talc	1

The active ingredient, starch, and cellulose are passed through a No. 45 mesh U.S. sieve and mixed thoroughly. The solution of polyvinylpyrrolidone is mixed with the resultant powders which are then passed through a No. 14 mesh U.S. sieve. The granules so produced are dried at 50° - 60°C and passed through a No. 18 mesh U.S. sieve. The sodium carboxymethyl starch, magnesium stearate, and talc, previously passed through a No. 60 U.S. sieve, are then added to the granules which, after mixing, are compressed on a tablet machine to yield tablets.

Suspensions each containing 0.25-100 mg of active ingredient per 5 ml dose are made as follows:

Formulation 4: Suspensions

Ingredient	Quantity (mg/5 mL)
Active ingredient	0.25-100 mg
Sodium carboxymethyl cellulose	50 mg
Syrup	1.25 mg
Benzolic acid solution	0.10 mL
Flavor	q.v.
Color	q.v.
Purified Water to	5 mL

The active ingredient is passed through a No. 45 mesh U.S. sieve and mixed with the sodium carboxymethyl cellulose and syrup to form smooth paste. The benzoic acid solution, flavor, and color are diluted with some of the water and added, with stirring. Sufficient water is then added to produce the required volume. An aerosol solution is prepared containing the following ingredients:

50200432-042800

36 ~~7~~

Formulation 5: Aerosol

Ingredient	Quantity (% by weight)
Active ingredient	0.25
Ethanol	25.75
Propellant 22 (Chlorodifluoromethane)	74.00

The active ingredient is mixed with ethanol and the mixture added to a portion of the propellant 22, cooled to 30°C, and transferred to a filling device. The required amount is then fed to a stainless steel container and diluted with the remaining propellant. The valve units are then fitted to the container.

Suppositories are prepared as follows:

Formulation 6: Suppositories

Ingredient	Quantity (mg/suppository)
Active ingredient	250
Saturated fatty acid glycerides	2,000

The active ingredient is passed through a No. 60 mesh U.S. sieve and suspended in the saturated fatty acid glycerides previously melted using the minimal necessary heat. The mixture is then poured into a suppository mold of nominal 2 g capacity and allowed to cool.

An intravenous formulation is prepared as follows:

Formulation 7: Intravenous Solution

Ingredient	Quantity
Active ingredient	25 mg
Isotonic saline	1,000 mL

The solution of the above ingredients is intravenously administered to a patient.

GENERAL EXPERIMENTAL PROCEDURES

300 and 400 MHz ¹H NMR spectra were recorded on a Varian Unity+ 300 or 400 spectrometer (Varian Co., Palo Alto, CA) equipped with two RF channels, indirect detection, and pulsed-field gradients (Z-axis only). Spectra were generally acquired near room temperature (21°C), and standard auto-lock and auto-shim routines were employed for shimming samples. Chemical shifts are expressed in parts per million downfield from trimethylsilane. The peak shapes are denoted as

008240-2E00209

follows: s, singlet; d, doublet; t, triplet; q, quartet; m, multiplet; bs, broad singlet. Resonances designated as exchangeable did not appear in a separate NMR experiment where the sample was shaken with several drops of D₂O in the same solvent. Atmospheric pressure chemical ionization mass spectra (APCIMS) were obtained on a Fisons Platform II or a Micromass ZMD spectrometer (Micromass, Manchester, U.K.). Where the intensity of chlorine or bromine-containing ions are described, the expected intensity ratio was observed (approximately 3:1 for ³⁵Cl/³⁷Cl-containing ions and 1:1 for ⁷⁹Br/⁸¹Br-containing ions) and M is based on ³⁵Cl and ⁷⁹Br. In some cases only representative ¹H NMR and APCIMS peaks are given.

Column chromatography was performed with either Baker Silica Gel (40 μm) (J.T. Baker, Phillipsburg, N.J.) or Silica Gel 60 (EM Sciences, Gibbstown, N.J.) in glass columns or in Flash 12, 40 or 75 (Biotage) (Charlottesville, VA) columns under low nitrogen pressure. Radial Chromatography was performed using a Chromatotron, (Harrison Research, Palo Alto, CA.) Unless otherwise specified, reagents were used as obtained from commercial sources. Dimethylformamide, 2-propanol, methanol, dimethylsulfoxide, 1,2-dichloroethane, tetrahydrofuran, toluene, dichloromethane and other reaction solvents were the anhydrous grade supplied by Aldrich Chemical Company (Milwaukee, Wisconsin). Microanalyses were performed by Schwarzkopf Microanalytical Laboratory, Woodside, NY. The terms "concentrated in vacuo" and "removed in vacuo" refer to removal of solvent at reduced pressure on a rotary evaporator with a bath temperature of less than 90°C. Reactions conducted at "0-20°C" or "0-25°C" were conducted with initial cooling of the vessel in an insulated ice bath which was allowed to warm to room temperature over several hours. The abbreviation "min" and "h" stand for "minutes" and "hours" respectively.

EXAMPLE 1

5-Amino-2-quinolone hydrochloride

A solution of the 5-nitro-2-quinolone (12.37 g, 65 mmol) (prepared as described in Capps, J. D.; Hamilton, C. S. *J. Am. Chem. Soc.* 1938, 60, 2104) in EtOH (178 mL) under a nitrogen atmosphere was treated with SnCl₂·2H₂O (73.4 g, 325 mmol). The heterogeneous reaction mixture was allowed to stir at 23 °C for 2 hours and heated at reflux for 2 hours. The resulting heterogeneous mixture was cooled to 23 °C and filtered. The solid material was triturated in HCl (1 M aqueous,

008210-230209

78 mL, 78 mmol) at reflux for 1 hour, cooled to 23 °C, and filtered to afford 10.08 g of the desired product (78 % yield).

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 6.42 (d, J=10, 1H), 6.71 (d, J=7.6, 1H), 6.81 (d, J=8, 1H), 7.27 (d, J=8, 1H), 8.04 (d, J=10, 1H), 11.71 (bs, 1H).

5 APCIMS 181 [M+1]⁺

EXAMPLE 2

5-Hydrazino-2-quinolone hydrochloride

10 A solution of 5-amino-2-quinolone hydrochloride (10.08 g, 51.2 mmol) in HCl (concentrated, 42.7 mL) and H₂O (18.2 mL) at 0 °C was treated dropwise with a solution of NaNO₂ (3.53 g, 51.2 mmol) in H₂O (26.4 mL) while maintaining the temperature below 5 °C. The resulting red suspension was allowed to stir at 0 °C for 1 hour.

15 In a separate three neck round bottom flask equipped with a mechanical stirrer, a slurry of SnCl₄·2H₂O (25.41 g, 112.6 mmol) in HCl (concentrated, 34.2 mL) and H₂O (93.9 mL) was cooled to 0 °C. The suspension was treated dropwise with the red diazonium salt suspension prepared above, while maintaining the temperature below 5 °C. The reaction mixture was warmed to 23 °C and allowed to stir for 3 hours. The resulting suspension was filtered. The collected solid was
20 triturated with HCl (1 M aqueous, 61.4 mL, 61.4 mmol) at 23 °C for 30 minutes. The solid was collected by filtration to afford 7.88 g of the desired product (73 % yield).

25 ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 6.43 (d, J= 10, 1H), 6.63 (d, J=8, 1H), 6.88 (d, J=8, 1H), 7.38 (t, J=8, 1H), 7.98 (d, J=10, 1H), 8.97 (bs, 1H), 10.40 (bs, 1H), 11.77 (bs, 1H).

APCIMS 176 [M+1]⁺

EXAMPLE 3

Methyl 5-cyclopropyl-1-(2-quinolon-5-yl)-1H-pyrazole-4-carboxylate

30 A solution of methyl 3-cyclopropyl-2-(dimethylaminomethylene)-3-oxopropanoate (7.85 g, 39.8 mmol) in EtOH (257 mL) was treated under a nitrogen atmosphere with triethylamine (7.77 mL, 55.8 mmol), followed by 5-hydrazino-2-quinolone hydrochloride (7.88 g, 37.2 mmol). The resulting heterogeneous reaction mixture was heated at reflux for 4 hours and cooled to 23 °C. A pale
35 yellow solid precipitated out and was collected by filtration to afford 5.08 g of the

008240-2E00209

desired product (44 % yield).

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 0.58-0.73 (m, 4H), 1.87 (m, 1H), 3.79 (s, 1H), 6.54 (d, J=10, 1H), 7.17 (d, J=10, 1H), 7.34 (d, J= 7.5, 1H), 7.49 (d, J=8, 1H), 7.88 (t, J=8, 1H), 8.08 (s, 1H), 12.10 (bs, 1H).

5 APCIMS 310 [M+1]⁺

EXAMPLE 4

5-Cyclopropyl-1-(2-quinolon-5-yl)-1H-pyrazole-4-carboxylic acid

A slurry of methyl 5-cyclopropyl-1-(2-quinolon-5-yl)-1H-pyrazole-4-
10 carboxylate (5.06 g, 16.4 mmol) in THF (81.8 mL) and MeOH (40.9 mL) was
treated with LiOH (1 M aqueous, 81.8 mL, 81.8 mmol) and heated at reflux for 2.5
hours. The resulting heterogeneous mixture was cooled to 23 °C. The MeOH and
THF were removed *in vacuo*. The resulting slurry was cooled to 0 °C and acidified
to pH 3-4 using HCl (concentrated). The mixture was filtered. The solid was dried
15 to afford 4.94 g of desired product (100% yield).

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 0.58 (d, J=4.4, 2H), 0.64 (d, J=8, 2H), 1.82
(m, 1H), 6.50 (d, J=10, 1H), 7.12 (d, J=10, 1H), 7.27 (d, J=7.6, 1H), 7.44 (d, J=8.4,
1H), 7.80 (t, J=8, 1H), 7.97 (s, 1H), 12.03 (bs, 1H), 12.38 (bs, 1H).

20 APCIMS 296 [M+1]⁺

EXAMPLE 5

[5-Cyclopropyl-1-(2-quinolon-5-yl)-1H-pyrazole-4-carboxyl]guanidine hydrochloride

A solution of 5-cyclopropyl-1-(2-quinolon-5-yl)-1H-pyrazole-4-carboxylic acid
(13.27 g, 45.0 mmol) in SOCl₂ (60 mL) was heated at reflux for 1 hour. The excess
25 SOCl₂ was removed *in vacuo*. The residue was treated with dry toluene and
concentrated *in vacuo*. A solution of the solid residue in THF (50 mL) was treated
with a solution of guanidine hydrochloride (15.47 g, 162 mmol) in NaOH (2 M
aqueous, 162 mL, 324 mmol) under a nitrogen atmosphere. The resulting mixture
was stirred at 23 °C for 2 hours. The reaction mixture was then concentrated *in*
30 *vacuo* to remove the THF. The aqueous layer was cooled to 0 °C and acidified to
pH 9. A pale yellow solid precipitated and was collected to afford 11.41 g of the
free base of the desired compound. A solution of the solid in MeOH (700 mL) was
treated with HCl (1 M in ether, 84.9 mL, 84.9 mmol). The solvent volume was
reduced *in vacuo*. The resulting pale brown precipitate was collected to afford 8.49
35 g (51% yield). (Additional product as the free base may be obtained by extraction

60200432-042800

40

of the aqueous layer using EtOAc-THF (1:1)).

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 0.51 (m, 2H), 0.70 (dd, *J*=2, 8.4, 2H), 1.92 (m, 1H), 8.53 (dd, *J*=1.6, 10, 1H), 7.17 (d, *J*=10, 1H), 7.32 (d, *J*=7, 1H), 7.48 (d, *J*=8.4, 1H), 7.64 (t, *J*=8.2, 1H), 8.34 (bs, 2H), 8.60 (bs, 3H), 11.64 (s, 1H), 12.10 (s, 1H).

APCIMS 337 [M+1]⁺

EXAMPLE 6

Identification of 5-cyclopropyl-1-(2-quinolin-5-yl)-1*H*-pyrazole-4-carbonylguanidine in human plasma samples by liquid chromatography (LC)/mass spectroscopy (MS)/MS and LC/NMR

Human subjects were dosed intravenously with 5-cyclopropyl-1-(quinolin-5-yl)-1*H*-pyrazole-4-carbonylguanidine monohydrochloride monohydrate. Human plasma samples were pooled together and proteins were precipitated by twice volume of acetonitrile. After centrifugation, the supernatant was concentrated in a water bath with N₂ at 40°C.

An aliquot (100 μL or 50 μL) of the concentrated sample was injected onto an LC/MS/MS instrument equipped with a Zorbax Rx-C8 4.6 x 150 mm column, analyzed on PE Sciex API 2000 or Finnigan LCQ mass spectrometer and monitored by UV detector at 254 nm. The eluent from the column was split so that 5% of eluent was diverted to the mass spectrometer and the rest was passed to UV detector. The analyses were performed using a mobile phase flow rate of 1 mL/minute, where the mobile phase consisted of 5 mM ammonium formate (pH 3.0) as solvent A and acetonitrile as solvent B. A gradient included 5/95 to 40/60 of B/A over a 20 minute period after an initial hold for 3 minutes. Under these LC conditions a metabolite was detected at a retention time of 11.8 minutes (5-cyclopropyl-1-(quinolin-5-yl)-1*H*-pyrazole-4-carbonylguanidine was detected at 13.7 minutes). The 16 mass units difference between 5-cyclopropyl-1-(quinolin-5-yl)-1*H*-pyrazole-4-carbonylguanidine (*m/z* 321) and metabolite (*m/z* 337) in human plasma suggested that it is formed through oxidation. LC/MS/MS product ion spectrum of protonated metabolite at *m/z* 337 ([M+H]⁺) showed fragment ions at *m/z* 278, 260, 250, 238, 223 and 208.

The salts were removed from the above concentrated sample by solid phase extraction. The sample was concentrated to contain approximately 5-10 μg of the metabolite. 50 μL of this sample was injected onto an LC/NMR instrument

60200432-042800

41
44

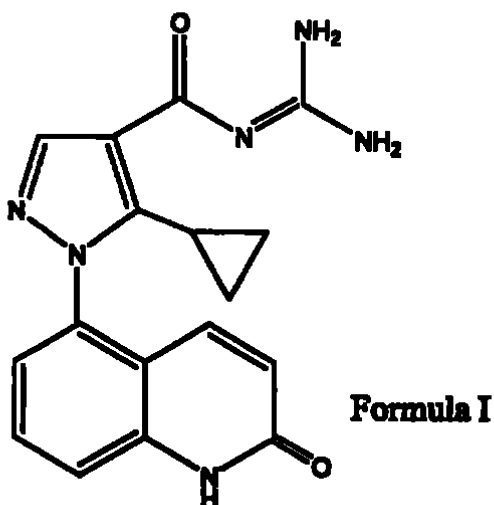
equipped with a Zorbax Rx-C8 4.6 x 150 mm column, analyzed on a Bruker 500 MHz NMR spectrometer and monitored by UV detector at 235 nm. The analyses were performed using a mobile phase flow rate of 1 ml/minute, where the mobile phase consisted of 15 mM deuterated aqueous formic acid adjusted to pH 3.3 with deuterated ammonium hydroxide in D₂O as solvent C and acetonitrile-d₃ as solvent D. A gradient included 5/95 to 20/80 of D/C over a 17 minute period after an initial hold for 3 minutes. The desired metabolite was captured in the NMR probe using the stop flow technique on the peak at 13.6 minutes. Proton NMR spectra and COSY spectra of the human metabolite contained two doublets (6.64 and 7.41 ppm) which were coupled to each other but not to any other peaks. The absence of the downfield peak at 8.92 ppm that is present in [5-cyclopropyl-1-(quinolin-5-yl)-1H-pyrazole-4-carbonyl]guanidine suggested that the 2-position on the quinoline ring was the site of oxidation. On the basis of this data the structure of the metabolite was assigned as [5-cyclopropyl-1-(2-quinolin-5-yl)-1H-pyrazole-4-carbonyl]guanidine. Comparison of the ¹H LC/NMR spectrum of the metabolite to that of a synthetic standard of [5-cyclopropyl-1-(2-quinolin-5-yl)-1H-pyrazole-4-carbonyl]guanidine hydrochloride, prepared as described in Example 5, confirmed the structural assignment.

008240.280209

42
7/17

CLAIMS

1. A compound having the Formula I



5

a prodrug thereof or a pharmaceutically acceptable salt of said compound or of said prodrug with the proviso that [5-cyclopropyl-1-(quinolin-5-yl)-1H-pyrazole-4-carbonyl]guanidine is not included.

- 10 2. [5-Cyclopropyl-1-(2-quinolon-5-yl)-1H-pyrazole-4-carbonyl]guanidine, or a pharmaceutically acceptable salt thereof.
3. A method of reducing tissue damage resulting from ischemia or hypoxia comprising administering to a mammal in need of such treatment a therapeutically effective amount of a compound of claim 1, a prodrug thereof or a pharmaceutically acceptable salt of said compound or of said prodrug.
- 15 4. A method as recited in claim 3 wherein the tissue is cardiac, brain, liver, kidney, lung, gut, skeletal muscle, spleen, pancreas, nerve, spinal cord, retina tissue, the vasculature, or intestinal tissue.
5. A method as recited in claim 3 wherein the amount of the compound of claim 1, a prodrug thereof or a pharmaceutically acceptable salt of said compound or of said prodrug is about 0.01 mg/kg/day to about 50 mg/kg/day.
- 20 6. A method as recited in claim 5 wherein the mammal is a female or male human.

008240-2800209

43

7. A method as recited in claim 6 wherein said tissue is heart tissue.
8. A method as recited in claim 6 wherein said tissue is brain tissue.
9. A method as recited in claim 6 wherein said tissue is liver tissue.
10. A method as recited in claim 6 wherein said tissue is kidney tissue.
- 5 11. A method as recited in claim 6 wherein said tissue is lung tissue.
12. A method as recited in claim 6 wherein said tissue is gut tissue.
13. A method as recited in claim 6 wherein said tissue is skeletal muscle tissue.
14. A method as recited in claim 6 wherein said tissue is spleen tissue.
15. A method as recited in claim 6 wherein said tissue is pancreas tissue.
- 10 16. A method as recited in claim 6 wherein said tissue is retina tissue.
17. A method as recited in claim 6 wherein the compound is administered prophylactically.
18. A method as recited in claim 6 wherein the compound is administered prior to surgery.
- 15 19. A method as recited in claim 6 wherein the compound is administered prior to cardiac surgery.
20. A method as recited in claim 6 wherein the compound is administered during surgery.
21. A method as recited in claim 6 wherein the compound is administered during cardiac surgery.
- 20 22. A method as recited in claim 6 wherein the compound is administered within twenty-four hours after surgery.
23. A method as recited in claim 6 wherein the compound is administered within twenty four hours after cardiac surgery.
- 25 24. A method as recited in claim 6 wherein the tissue damage resulting from ischemia is ischemic damage and is incurred during organ transplantation.
25. A method as recited in claim 6 wherein the compound is administered to prevent perioperative myocardial ischemic injury.
26. A pharmaceutical composition which comprises an amount of the
- 30 compound of claim 1, a prodrug thereof or a pharmaceutically acceptable salt of said compound or of said prodrug and a pharmaceutically acceptable carrier, vehicle or diluent.
27. A pharmaceutical composition for the reduction of tissue damage resulting from ischemia or hypoxia which comprises a therapeutically effective amount of the

60200432-042800

44
1/2

compound of claim 1, a prodrug thereof or a pharmaceutically acceptable salt of said compound or of said prodrug and a pharmaceutically acceptable carrier, vehicle or diluent.

5 28. A method as recited in claim 6 wherein the compound is administered prior to, during and after surgery.

29. A method as recited in claim 6 wherein the compound is administered prior to, during and after cardiac surgery.

10 30. A method of producing [5-cyclopropyl-1-(2-quinolin-5-yl)-1H-pyrazole-4-carbonyl]guanidine by administering [5-cyclopropyl-1-(quinolin-5-yl)-1H-pyrazole-4-carbonyl]guanidine to a human.

31. Substantially pure [5-cyclopropyl-1-(2-quinolin-5-yl)-1H-pyrazole-4-carbonyl]guanidine, or a pharmaceutically acceptable salt of said compound.

60200432-042800

45
\$

ABSTRACT

NHE-1 inhibitor, methods of using the NHE-1 inhibitor and pharmaceutical compositions containing the NHE-1 inhibitor. The NHE-1 inhibitor is useful for the reduction of tissue damage resulting from tissue ischemia.

008240-2500209

46
X

Esta es una traducción parcial al idioma español de un documento escrito originalmente en el idioma inglés.

5

LOS ESTADOS UNIDOS DE AMERICA

A TODOS AQUELLOS A QUIEN ESTE DOCUMENTO SE LES PRESENTE:

DEPARTAMENTO DE COMERCIO DE LOS ESTADOS UNIDOS

10

Oficina de Patentes y Marcas de los Estados Unidos

Diciembre 14, 2000

15

ESTO ES PARA CERTIFICAR QUE LO ANEXADO A LA PRESENTE ES UNA FIEL COPIA DE LOS EXPEDIENTES DE LA OFICINA DE PATENTES Y MARCAS DE LOS ESTADOS UNIDOS DE AQUELLOS DOCUMENTOS DE LA SOLICITUD DE PATENTE IDENTIFICADA A CONTINUACION QUE REUNIERON LOS REQUERIMIENTOS PARA QUE SE LE CONCEDA UNA FECHA DE PRESENTACION BAJO 35 USC (Código de los Estados Unidos)

20

111.

NO. DE SOLICITUD: 60/200,432 ✓

FECHA DE PRESENTACION: 28 de Abril de 2000 ✓

25

SELLO DE LA
OFICINA DE MARCAS Y PATENTES
DE LOS ESTADOS UNIDOS DE

Por la Autoridad del
COMISIONADO DE PATENTES Y MARCAS

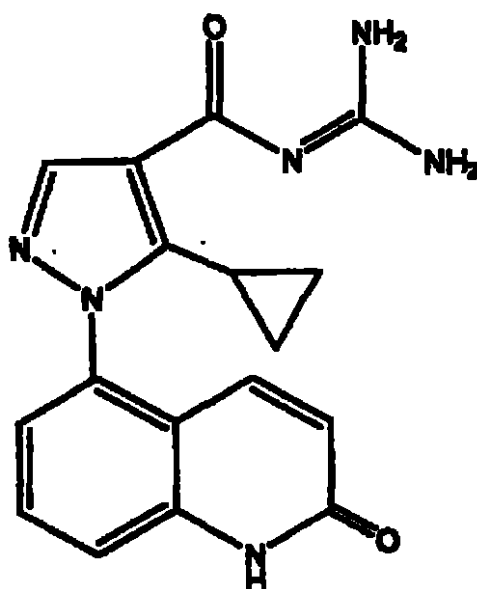
[firma ilegible]

30

T. WALLACE
Oficial de Certificación

REIVINDICACIONES

1.- Un compuesto que tiene la fórmula I



fórmula I

su profármaco, o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho
5 compuesto o de dicho profármaco, con la condición de que la
[5-ciclopropil-1-(quinolin-5-il)-1H-pirazol-4-
carbonil]guanidina no se incluye.

2.- La [5-ciclopropil-1-(2-quinolon-5-il)-1H-pirazol-4-
carbonil]guanidina, o su sal farmacéuticamente aceptable.

10 3.- Un método para reducir las lesiones tisulares
resultantes de la isquemia o la hipoxia, que comprende
administrar a un mamífero que necesite dicho tratamiento una
cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la
reivindicación 1, su profármaco, o una sal farmacéuticamente
15 aceptable de dicho compuesto o de dicho profármaco.

4.- Un método según la reivindicación 3, en el cual el
tejido es tejido cardíaco, cerebral, hepático, renal,
pulmonar, del intestino, del músculo esquelético, del bazo,
pancreático, nervioso, de la médula espinal, retiniano, de la
20 vasculatura o intestinal.

5.- Un método según la reivindicación 3, en el cual la
cantidad del compuesto de la reivindicación 1, su profármaco,
o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o de
dicho profármaco es desde aproximadamente 0,01 mg/kg/día a

48
K

aproximadamente 50 mg/kg/día.

6.- Un método según la reivindicación 5, en el cual el mamífero es una mujer o un hombre.

5 7.- Un método según la reivindicación 6, en el cual dicho tejido es tejido cardíaco.

8.- Un método según la reivindicación 6, en el cual dicho tejido es tejido cerebral.

9.- Un método según la reivindicación 6, en el cual dicho tejido es tejido hepático.

10 10.- Un método según la reivindicación 6, en el cual dicho tejido es tejido renal.

11.- Un método según la reivindicación 6, en el cual dicho tejido es tejido pulmonar.

15 12.- Un método según la reivindicación 6, en el cual dicho tejido es tejido intestinal.

13.- Un método según la reivindicación 6, en el cual dicho tejido es tejido del músculo esquelético.

14.- Un método según la reivindicación 6, en el cual dicho tejido es tejido del bazo.

20 15.- Un método según la reivindicación 6, en el cual dicho tejido es tejido pancreático.

16.- Un método según la reivindicación 6, en el cual dicho tejido es tejido retiniano.

25 17.- Un método según la reivindicación 6, en el cual el compuesto se administra de modo profiláctico.

18.- Un método según la reivindicación 6, en el cual el compuesto se administra antes de la cirugía.

19.- Un método según la reivindicación 6, en el cual el compuesto se administra antes de la cirugía cardíaca.

30 20.- Un método según la reivindicación 6, en el cual el compuesto se administra durante la cirugía.

21.- Un método según la reivindicación 6, en el cual el compuesto se administra durante la cirugía cardíaca.

35 22.- Un método según la reivindicación 6, en el cual el compuesto se administra en las veinticuatro horas siguientes a la cirugía.

23.- Un método según la reivindicación 6, en el cual el

49
H

compuesto se administra en las veinticuatro horas siguientes a la cirugía cardíaca.

24.- Un método según la reivindicación 6, en el cual las lesiones tisulares resultantes de la isquemia son lesiones isquémicas y se producen durante el transplante de órganos.

25.- Un método según la reivindicación 6, en el cual el compuesto se administra para prevenir las lesiones isquémicas miocárdicas perioperativas.

26.- Una composición farmacéutica que comprende una cantidad del compuesto de la reivindicación 1, su profármaco, o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o de dicho profármaco, y un portador, vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptables.

27.- Una composición farmacéutica para la reducción de las lesiones tisulares resultantes de la isquemia o la hipoxia, que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de la reivindicación 1, su profármaco, o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o de dicho profármaco, y un portador, vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptables.

28.- Un método según la reivindicación 6, en el cual el compuesto se administra antes, durante y después de la cirugía.

29.- Un método según la reivindicación 6, en el cual el compuesto se administra antes, durante y después de la cirugía cardíaca.

30.- Un método para producir la [5-ciclopropil-1-(2-quinolon-5-il)-1H-pirazol-4-carbonil]guanidina, mediante la administración de [5-ciclopropil-1-(quinolin-5-il)-1H-pirazol-4-carbonil]guanidina a un ser humano.

31.- La [5-ciclopropil-1-(2-quinolon-5-il)-1H-pirazol-4-carbonil]guanidina sustancialmente pura, o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto.

TRADUCCION OFICIAL No. 137/01 de un documento escrito en Inglés, el cual para su identificación se sella con el sello del Traductor. Esta es una Traducción Oficial efectuada el día 9 de abril de 2001 por la Sra. María Teresa Lara R., c.c. 41.568.055 de Bogotá, Traductora Oficial según Resolución No. 01016 del 2 de octubre de 1998, expedida por el Ministerio de Justicia.

=====

Traspaso del Invento "Inhibidor Tipo 1 Intercambiador de Sodio-Hidrogeno" a PFIZER PRODUCTS INC. Certificación notarial suscrita por Kenneth Greenwood, Notario Público de Egham, Surrey, Inglaterra, y legalizaciones subsiguientes.

PC10866AAD
CO-1

TRASPASO

Por contraprestación valiosa pagada a nosotros por **PFIZER PRODUCTS INC.**, sociedad constituida conforme a las leyes del Estado de Connecticut, Estados Unidos de América, cuya dirección postal completa es Eastern Point Road, Groton, Connecticut 06340, Estados Unidos de América, por el presente vendemos y traspasamos a la citada **PFIZER PRODUCTS INC.**, todo nuestro derecho, título e interés en y sobre nuestro Invento de una nueva y útil Mejora en **INHIBIDOR TIPO 1 INTERCAMBIADOR DE SODIO-HIDRÓGEN** en cuanto hace a la República de Colombia, tal como se indica y describe plenamente en la especificación, y por el presente autorizamos y solicitamos al Comisionado de Patentes de Colombia expedir dicha patente a nombre de la citada **PFIZER PRODUCTS INC.**, de conformidad con este traspaso.

En fe de lo cual, hemos firmado el presente.

(Fdo.) Weichao George Chen	23 Enero 2001
Lugar, fecha y firma - Weichao George CHEN	Groton, Connecticut, EUA

MARIA TERESA LARA R.
TRADUCTORA OFICIAL
RESOLUCION No. 01016
DE MINISTERIO DE JUSTICIA

(Fdo.) Eric David Cox

19 Enero 2001

Lugar, fecha y firma - Eric David COX

Groton, Connecticut, EUA

(Fdo.) Angel Guzman-Perez

22 Enero 2001

Lugar, fecha y firma - Angel GUZMAN-PEREZ

Groton, Connecticut, EUA

(Fdo.) James Frederick Egglar

09 Marzo 2001

Lugar, fecha y firma - James Frederick EGGLER

Groton, Connecticut, EUA

[Sello]

Certificado, verificado y autenticado
en la ciudad de Egham en Surrey

El día 6 de febrero de 2001

(Fdo.) Kenneth Greenwood

KENNETH GREENWOOD
NOTARIO PUBLICO
HORNE ENGALL AND FREEMAN

(Adherida, oblea dorada
con el sello notarial)

MARIA TERESA LARA R.
TRADUCTORA OFICIAL
RESOLUCION No. 0109
DE 1997

APOSTILLA

(Convención de La Haya del 5 de octubre de 1961)

1. País: Reino Unido de la Gran Bretaña e Irlanda del Norte

Este documento público

2. ha sido firmado por K Greenwood
3. actuando en calidad de Notario Público
4. lleva el sello/estampilla de el antedicho Notario Público

52 

Certificado

5.

en Londres
6.

el 07 de febrero de 2001
7.

por el Secretario de Estado Principal de Su Majestad para Asuntos Exteriores y de la Commonwealth
8.

No. **G860723**
9.

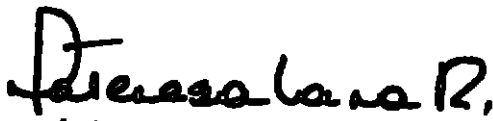
Sello/Estampilla
10.

Firma
- (Sello de la Oficina de Asuntos Exteriores y de la Commonwealth)
- (Fdo.) **B. Amarteiffo**


MARIA TERESA LARA R.
TRADUCTORA OFICIAL
RESOLUCION No. 01016
DE MINISTERIO DE JUSTICIA

=====

La anterior es traducción fiel y completa del documento en referencia, de la cual se deja copia en este archivo para su confrontación.


María Teresa Lara R.
c.c. 41.568.055 de Bogotá
Traductora Oficial según
Resolución No. 01016 del
2 de octubre de 1998, del
Ministerio de Justicia

ASSIGNMENT

53

For valuable consideration paid to me (us) by PFIZER PRODUCTS INC. a corporation organized under the laws of the State of Connecticut, United States of America whose full post office address is Eastern Point Road, Groton, Connecticut 06340, United States of America, I (we) do hereby sell and assign to the said PFIZER PRODUCTS INC., all my (our) right, title and interest in and to my (our) invention for a new and useful Improvement in SODIUM-HYDROGEN EXCHANGER TYPE 1 INHIBITOR so far as the Republic of Colombia is concerned, as fully set forth and described in the specification, and I (we) do hereby authorize and request the Commissioner of Patents of Colombia to issue said patent to the said PFIZER PRODUCTS INC. in accordance with this assignment.

In witness whereof I (we) have hereunto set my (our) hand(s) this

Wei Chao George Chen
 Place, date and signature - Wei Chao George CHEN 23 January 2001
 Groton, Connecticut, USA

Eric David Cox
 Place, date and signature - Eric David COX 19 January 2001
 Groton, Connecticut, USA

Angel Guzman-Perez
 Place, date and signature - Angel GUZMAN-PEREZ 22 January 2001
 Groton, Connecticut, USA

Comes and is Verified And Authenticated
 In the Town Of Groton in the State of Connecticut
 This 6th day of February 2001

KENNETH GREENWOOD
 NOTARY PUBLIC
 HORNE ENGALL AND FREEMAN



4363

APOSTILLE

54

(Hague Convention of 5 October 1961 / Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1. Country: United Kingdom of Great Britain and Northern Ireland
Pays: Royaume-Uni de Grande-Bretagne et d'Irlande du Nord

This public document / Le présent acte public

2. Has been signed by **K Greenwood**
a été signé par
3. Acting in the capacity of **Notary Public**
agissant en qualité de
4. Bears the seal/stamp of **The Said Notary Public**
est revêtu du sceau/timbre de

Certified/Auressé

5. at London/à Londres

6. the/le 07 February 2001

7. by Her Majesty's Principal Secretary of State for Foreign and Commonwealth Affairs /
par le Secrétaire d'Etat Principal de Sa Majesté aux Affaires Etrangères et du Commonwealth.

8. Number/sous No **G860723**

9. Stamp:
timbre:



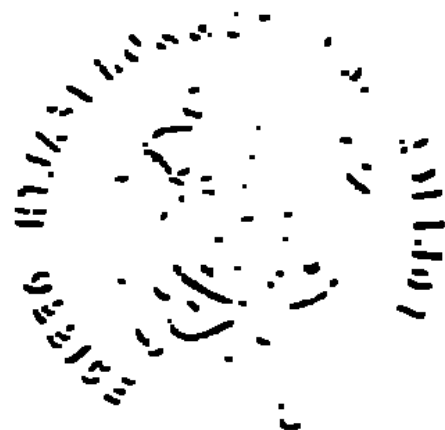
10. Signature: **B. Amarteifio**

For the Secretary of State / Pour le Secrétaire d'Etat

Maria Teresa Lara R.

**MARIA TERESA LARA R.
TRADUCTORA OFICIAL
RESOLUCION No. 01010
DE MINJUSTICIA**

137/01



INHIBIDOR DEL INTERCAMBIADOR DE SODIO-HIDRÓGENO DE TIPO 1
ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Esta invención trata de un inhibidor del intercambiador de sodio-hidrógeno de tipo 1 (NHE-1).

5 Las lesiones isquémicas miocárdicas pueden producirse en consultas externas, así como en escenarios perioperativos, y pueden conducir al desarrollo de la muerte súbita, el infarto de miocardio o la insuficiencia coronaria congestiva. Existe una necesidad médica no cubierta de prevenir o
10 minimizar las lesiones isquémicas miocárdicas, en particular el infarto de miocardio perioperativo. Se espera que esta terapia pueda salvar vidas y reducir las hospitalizaciones, mejorar la calidad de vida y reducir los costes de cuidados sanitarios globales de los pacientes de alto riesgo.

15 La cardioprotección farmacológica reduciría la aparición y progresión del infarto de miocardio y las disfunciones que se producen en estos escenarios quirúrgicos (de modo perioperativo). Además de reducir las lesiones miocárdicas y mejorar la función miocárdica postisquémica en
20 los pacientes con enfermedad cardíaca isquémica, la cardioprotección también disminuiría la incidencia de morbilidad y mortalidad cardíacas debidas al infarto de miocardio y la disfunción miocárdica en pacientes "de riesgo" (como los mayores de 65 años, las personas intolerantes al
25 ejercicio, las que padecen enfermedad de la arteria coronaria, diabetes mellitus, hipertensión) que requieren cirugía no cardíaca.

El(los) mecanismo(s) responsable(s) de las lesiones miocárdicas observadas después de la isquemia y la
30 reperfusión no se comprenden en su totalidad.

Una diversidad de publicaciones han descrito el uso de derivados de guanidina como útiles para el tratamiento, por ejemplo, de arritmias.

La solicitud de patente recientemente publicada
35 PCT/IB99/00206, publicada como documento WO 99/43663 el 2 de septiembre de 1999, cuya memoria descriptiva se incorpora en la presente como referencia, describe una diversidad d

inhibidores de NHE-1, incluyendo la [5-ciclopropil-1-(quinolin-5-il)-1H-pirazol-4-carbonil]guanidina. La publicación además indica que "las sales preferidas del compuesto inmediatamente anterior son las sales de mono- o dimesilato". Un grupo de compuestos preferidos, que incluye los compuestos de hidroxiquinoleína, se describe en la reivindicación 102 de la solicitud publicada. Por supuesto, algunos de estos compuestos de hidroxiquinoleína pueden existir en diversas formas tautómeras, como la forma de quinolona descrita en esta solicitud de patente. Además, la solicitud provisional de EEUU cedida junto con la presente n° de serie 60/162.374, presentada el 29 de octubre de 1999, está dirigida a formas cristalinas del inhibidor de NHE-1 descrito anteriormente.

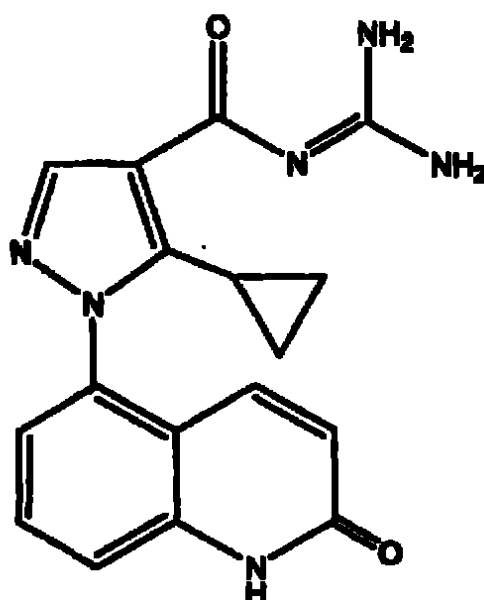
La solicitud PCT/JP97/04650, publicada el 25 de junio de 1998, describe compuestos de N-[(heteroarilo de cinco eslabones sustituido)]guanidina, que son útiles como inhibidores del intercambio Na^+/H^+ , y por consiguiente son eficaces para el tratamiento de diversas enfermedades, como la hipertensión, la angina de pecho, el infarto de miocardio, la arteriosclerosis y las complicaciones de la diabetes.

Por tanto, existe claramente una necesidad y en este campo de la técnica se está llevando a cabo una búsqueda en la actualidad de compuestos para el tratamiento de la isquemia miocárdica perioperativa.

SUMARIO DE LA INVENCION

Esta invención se dirige a un compuesto de fórmula I

57 ~~58~~



fórmula I

su profármaco, o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o de dicho profármaco, con la condición de que la [5-ciclopropil-1-(quinolin-5-il)-1H-pirazol-4-carbonil]guanidina no se incluye.

Tal como se utiliza en la presente, la expresión "su profármaco, o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o de dicho profármaco" incluye la condición de que la [5-ciclopropil-1-(quinolin-5-il)-1H-pirazol-4-carbonil]guanidina no se incluye.

Esta invención también está dirigida a la [5-ciclopropil-1-(2-quinolon-5-il)-1H-pirazol-4-carbonil]guanidina sustancialmente pura, o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto.

Como alternativa, el compuesto anterior se denomina [5-ciclopropil-1-(2-quinolon-5-il)-1H-pirazol-4-carbonil]guanidina. Una sal preferida es la sal hidrocloreuro, y más preferiblemente la sal monohidrocloreuro.

Otro aspecto de la invención es un método para tratar un mamífero (por ejemplo, un ser humano) que padece una enfermedad o trastorno mediado por NHE-1, mediante la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de fórmula I, su profármaco, o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o de dicho

profármaco, al mamífero.

Otro aspecto de esta invención está dirigido a un método para reducir las lesiones tisulares (por ejemplo, prevenir sustancialmente las lesiones tisulares, induciendo la protección tisular) resultantes de la isquemia, que comprende administrar a un mamífero (por ejemplo, una mujer o un hombre) que necesite dicho tratamiento, una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de fórmula I, su profármaco o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o de dicho profármaco.

Los tejidos isquémicos preferidos, tomados de forma individual o como grupo, son los tejidos cardíacos, cerebrales, hepáticos, renales, pulmonares, del intestino, del músculo esquelético, del bazo, pancreáticos, nerviosos, de la médula espinal, retinianos, de la vasculatura o intestinales.

Un tejido isquémico especialmente preferido es el tejido cardíaco.

Se prefiere especialmente que el compuesto de fórmula I, su profármaco o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o de dicho profármaco se administre para evitar las lesiones isquémicas miocárdicas perioperativas.

Preferiblemente, el compuesto de fórmula I, su profármaco o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o de dicho profármaco se administra de modo profiláctico.

Las lesiones isquémicas pueden producirse durante el transplante de órganos, en el órgano o en el paciente.

Preferiblemente, el compuesto de fórmula I, su profármaco o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o de dicho profármaco se administra antes, durante y/o poco tiempo después de la cirugía cardíaca o de la cirugía no cardíaca.

En un aspecto de esta invención, el compuesto de fórmula I, su profármaco o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o de dicho profármaco se administra de modo local.

Una dosificación preferida es desde aproximadamente 0,01 a 100 mg/kg/día del compuesto de fórmula I, su profármaco o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o de dicho profármaco. Una dosificación
5 especialmente preferida es desde aproximadamente 0,01 a 50 mg/kg/día del compuesto de fórmula I, su profármaco o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o de dicho profármaco.

Otro aspecto de esta invención está dirigido a un
10 método para reducir las lesiones tisulares miocárdicas (por ejemplo, prevenir sustancialmente las lesiones tisulares, induciendo la protección tisular) durante la cirugía (por ejemplo, la cirugía de injerto de bypass de la arteria coronaria (CABG), la cirugía vascular, la angioplastia
15 percutánea coronaria transluminal (PTCA), el transplante de órganos, u otras cirugías no cardíacas), que comprende administrar a un mamífero (por ejemplo, una mujer o un hombre) una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de fórmula I, su profármaco o una sal farmacéuticamente
20 aceptable de dicho compuesto o de dicho profármaco.

Otro aspecto de esta invención está dirigido a un método para reducir las lesiones tisulares miocárdicas (por ejemplo, prevenir sustancialmente las lesiones tisulares, induciendo la protección tisular) en pacientes con
25 acontecimientos cardíacos en desarrollo (síndromes coronarios agudos, por ejemplo infarto de miocardio o angina inestable) o isquémicos cerebrales (por ejemplo, accidentes cerebrovasculares), que comprende administrar a un mamífero (por ejemplo, una mujer o un hombre) una cantidad
30 terapéuticamente eficaz del compuesto de fórmula I, su profármaco o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o de dicho profármaco.

Otro aspecto de esta invención está dirigido a un método crónico para reducir las lesiones tisulares
35 miocárdicas (por ejemplo, prevenir sustancialmente las lesiones tisulares, induciendo la protección tisular) en un paciente con una enfermedad cardíaca coronaria diagnosticada

(por ejemplo, infarto de miocardio o angina inestable previas) o en pacientes que tienen un alto riesgo de infarto de miocardio (por ejemplo, los mayores de 65 años y dos o más factores de riesgo de padecer una enfermedad cardíaca coronaria), que comprende administrar a un mamífero (por ejemplo, una mujer o un hombre) una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de fórmula I, su profármaco o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o de dicho profármaco.

10 Otro aspecto de esta invención está dirigido a un método para prevenir las lesiones isquémicas, que comprende la administración oral crónica a un mamífero que necesite dicho tratamiento, de una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de fórmula I, su profármaco o una sal
15 farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o de dicho profármaco.

Otro aspecto de esta invención está dirigido a un método para tratar las enfermedades cardiovasculares, que comprende administrar a un mamífero (por ejemplo, una mujer o
20 un hombre) una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de fórmula I, su profármaco o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o de dicho profármaco.

Otro aspecto de esta invención está dirigido a un método para tratar la arteriosclerosis, que comprende
25 administrar a un mamífero (por ejemplo, una mujer o un hombre) una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de fórmula I, su profármaco o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o de dicho profármaco.

Otro aspecto de esta invención está dirigido a un
30 método para tratar la hipertensión, que comprende administrar a un mamífero (por ejemplo, una mujer o un hombre) una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de fórmula I, su profármaco o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o de dicho profármaco.

35 Otro aspecto de esta invención está dirigido a un método para tratar la arritmia, que comprende administrar a un mamífero (por ejemplo, una mujer o un hombre) una cantidad

61

7

terapéuticamente eficaz del compuesto de fórmula I, su profármaco o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o de dicho profármaco.

5 Otro aspecto de esta invención está dirigido a un método para tratar la angina de pecho, que comprende administrar a un mamífero (por ejemplo, una mujer o un hombre) una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de fórmula I, su profármaco o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o de dicho profármaco.

10 Otro aspecto de esta invención está dirigido a un método para tratar la hipertrofia cardíaca, que comprende administrar a un mamífero (por ejemplo, una mujer o un hombre) una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de fórmula I, su profármaco o una sal farmacéuticamente
15 aceptable de dicho compuesto o de dicho profármaco.

Otro aspecto de esta invención está dirigido a un método para tratar las enfermedades renales, que comprende administrar a un mamífero (por ejemplo, una mujer o un hombre) una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de
20 fórmula I, su profármaco o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o de dicho profármaco.

Otro aspecto de esta invención está dirigido a un método para tratar las complicaciones diabéticas, que comprende administrar a un mamífero (por ejemplo, una mujer o
25 un hombre) una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de fórmula I, su profármaco o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o de dicho profármaco.

Otro aspecto de esta invención está dirigido a un método para tratar la reestenosis, que comprende administrar
30 a un mamífero (por ejemplo, una mujer o un hombre) una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de fórmula I, su profármaco o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o de dicho profármaco.

Otro aspecto de esta invención está dirigido a un
35 método para tratar las enfermedades de proliferación celular, que comprende administrar a un mamífero (por ejemplo, una mujer o un hombre) una cantidad terapéuticamente eficaz del

compuesto de fórmula I, su profármaco o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o de dicho profármaco.

Otro aspecto de esta invención está dirigido a un
5 método para tratar las enfermedades cancerosas, que comprende administrar a un mamífero (por ejemplo, una mujer o un hombre) una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de fórmula I, su profármaco o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o de dicho profármaco.

10 Otro aspecto de esta invención está dirigido a un método para tratar las enfermedades fibróticas, que comprende administrar a un mamífero (por ejemplo, una mujer o un hombre) una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de fórmula I, su profármaco o una sal farmacéuticamente
15 aceptable de dicho compuesto o de dicho profármaco.

Otro aspecto de esta invención está dirigido a un método para tratar la nefrosclerosis glomerular, que comprende administrar a un mamífero (por ejemplo, una mujer o un hombre) una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto
20 de fórmula I, su profármaco o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o de dicho profármaco.

Otro aspecto de esta invención está dirigido a un método para tratar la fibrosis pulmonar, que comprende administrar a un mamífero (por ejemplo, una mujer o un
25 hombre) una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de fórmula I, su profármaco o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o de dicho profármaco.

Otro aspecto de esta invención está dirigido a un método para tratar los trastornos cerebroisquémicos, que
30 comprende administrar a un mamífero (por ejemplo, una mujer o un hombre) una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de fórmula I, su profármaco o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o de dicho profármaco.

Otro aspecto de esta invención está dirigido a un
35 método para tratar el aturdimiento miocárdico, que comprende administrar a un mamífero (por ejemplo, una mujer o un hombre) una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de

fórmula I, su profármaco o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o de dicho profármaco.

Otro aspecto de esta invención está dirigido a un método para tratar la disfunción miocárdica, que comprende
5 administrar a un mamífero (por ejemplo, una mujer o un hombre) una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de fórmula I, su profármaco o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o de dicho profármaco.

Otro aspecto de esta invención está dirigido a un
10 método para tratar las enfermedades cerebrovasculares, que comprende administrar a un mamífero (por ejemplo, una mujer o un hombre) una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de fórmula I, su profármaco o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o de dicho profármaco.

Otro aspecto de esta invención está dirigido a un
15 método para tratar las hiperplasias o hipertrofias de órganos, que comprende administrar a un mamífero (por ejemplo, una mujer o un hombre) una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de fórmula I, su profármaco o una sal
20 farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o de dicho profármaco.

Esta invención también está dirigida a composiciones farmacéuticas que comprenden una cantidad del compuesto de
25 fórmula I, su profármaco o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o de dicho profármaco, y un vehículo, portador o diluyente farmacéuticamente aceptables.

Esta invención también está dirigida a composiciones farmacéuticas para la reducción de las lesiones tisulares que resultan de la isquemia, que comprenden una cantidad
30 terapéuticamente eficaz del compuesto de fórmula I, su profármaco o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o de dicho profármaco, y un vehículo, portador o diluyente farmacéuticamente aceptables.

La expresión "reducción" pretende incluir la prevención
35 o la prevención parcial, que aunque en conjunto es mayor que la que se produciría en caso de no tomar el compuesto o de tomar un placebo, es menor que 100%, además de la prevención

sustancialmente total.

La expresión "lesiones que resultan de la isquemia", tal como se emplea en la presente, hace referencia a los trastornos asociados directamente con una disminución del flujo sanguíneo a los tejidos, por ejemplo debida a un coágulo o una obstrucción de los vasos sanguíneos que suministran la sangre al tejido concreto, y que da como resultado, entre otros, a un menor transporte de oxígeno a dicho tejido, una actuación del tejido disminuida, y una disfunción y/o necrosis del tejido. Como alternativa, cuando el flujo sanguíneo o la perfusión del órgano es cuantitativamente adecuada, la capacidad portadora de oxígeno de la sangre o el medio de perfusión del órgano puede reducirse, por ejemplo, en un medio hipóxico, de forma que se disminuye el suministro de oxígeno al tejido, y se produce la actuación del tejido disminuida, la disfunción del tejido y/o la necrosis del tejido.

Las expresiones "tratar", "trata" o "tratamiento", tal como se utilizan en la presente, incluyen el tratamiento paliativo y preventivo (por ejemplo, profiláctico).

La expresión "sal farmacéuticamente aceptable" hace referencia a sales aniónicas no tóxicas que contienen aniones tales como (pero no se limitan a éstos) cloruro, bromuro, yoduro, sulfato, bisulfato, fosfato, acetato, maleato, fumarato, oxalato, lactato, tartrato, citrato, gluconato, metanosulfonato (mesilato) y 4-toluensulfonato. Puesto que existe más de un resto básico, la expresión puede incluir sales múltiples (por ejemplo, disales). La expresión también hace referencia a sales catiónicas no tóxicas, tales como (pero no se limitan a éstas) sales de sodio, potasio, calcio, magnesio, amonio o benzetina protonada (N,N'-dibenciletilendiamina), colina, etanolamina, dietanolamina, etilendiamina, meglamina (N-metilglucamina), benetamina (N-bencilfenetilamina), piperazina o trometamina (2-amino-2-hidroximetil-1,3-propanodiol).

La expresión "profármaco" hace referencia a compuestos que son precursores del fármaco que, después de la

administración, liberan el fármaco *in vivo* a través de un proceso químico o fisiológico (por ejemplo, un profármaco, después de cambiar a un pH fisiológico o mediante una acción enzimática, se convierte en la forma del fármaco deseada). De nuevo, existe la condición de que no se incluya la [5-ciclopropil-1-(quinolin-5-il)-1H-pirazol-4-carbonil]guanidina.

La expresión "farmacéuticamente aceptable" significa que el vehículo, portador, excipientes y/o sales deben ser compatibles con los otros ingredientes de la formulación, y que no sean perjudiciales para el receptor de la misma.

Tal como se utiliza en la presente, las expresiones "disolvente inerte a la reacción" y "disolvente inerte" hacen referencia a un disolvente o mezcla de disolventes que no interaccionan con los materiales de partida, los reactivos, los intermedios o los productos, de una manera que afecte de forma adversa el rendimiento del producto deseado.

Se comprenderá que el compuesto de la invención puede existir de forma marcada de manera radiactiva, es decir, el compuesto puede contener uno o más átomos que contienen una masa atómica o un número másico diferente de la masa atómica o del número másico que normalmente se encuentra en la naturaleza. Los radioisótopos del hidrógeno y del carbono incluyen ^2H , ^3H y ^{14}C , respectivamente. Un compuesto de esta invención, que contiene estos radioisótopos y/u otros radioisótopos de otros átomos, se encuentra dentro del alcance de esta invención. Los radioisótopos tritiados, es decir, ^3H , y del carbono 14, es decir, ^{14}C , se prefieren particularmente por su facilidad de preparación y detectabilidad. Un compuesto de fórmula I marcado de manera radiactiva puede prepararse en general mediante métodos muy conocidos por los expertos en la técnica. De modo conveniente, estos compuestos marcados de manera radiactiva pueden prepararse llevando a cabo los procedimientos descritos en los esquemas y/o en los ejemplos a continuación, sustituyendo un reactivo no marcado de manera radiactiva por un reactivo marcado de manera radiactiva que puede adquirirse

con facilidad.

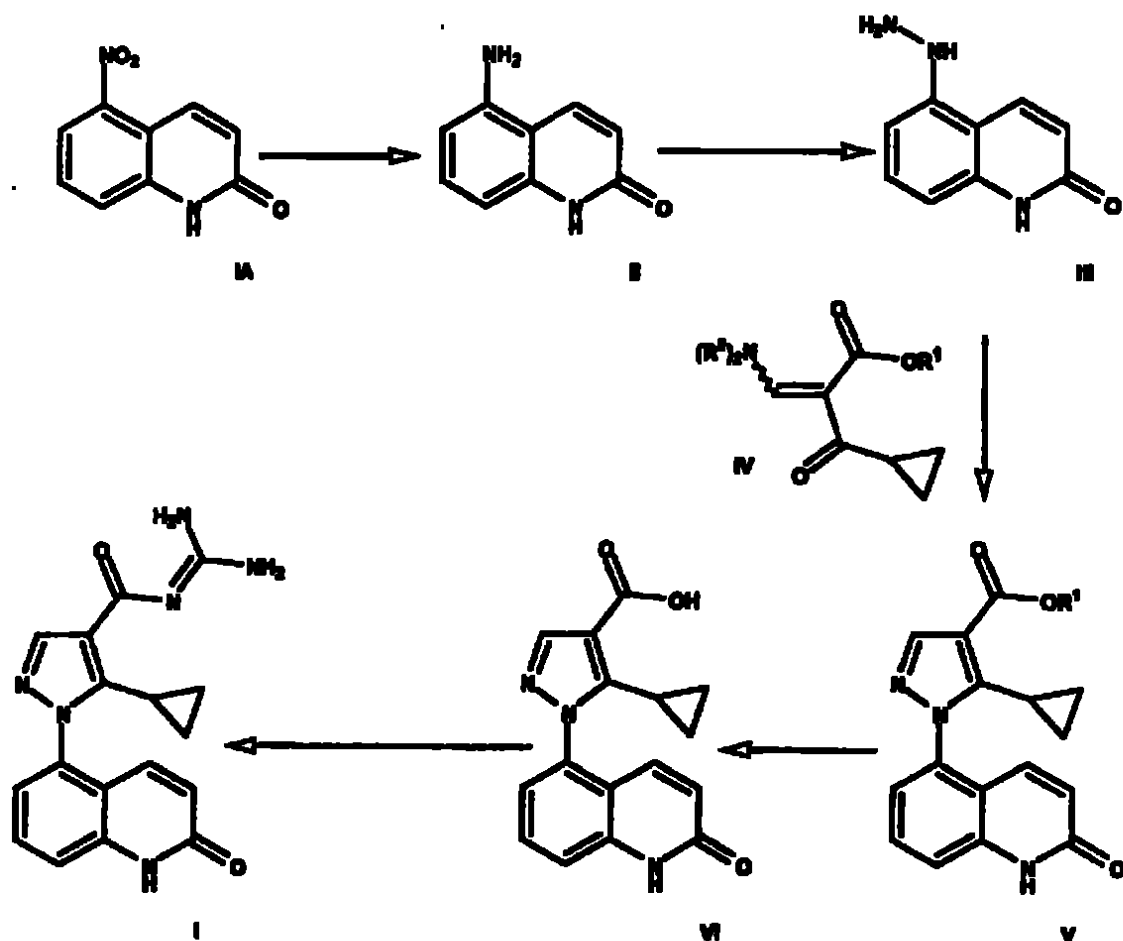
Otras características y ventajas resultarán evidentes a partir de la memoria descriptiva y las reivindicaciones que describen la invención.

5 DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

El compuesto de fórmula I es un metabolito humano de la [5-ciclopropil-1-(quinolin-5-il)-1H-pirazol-4-carbonil]-guanidina. Se identificó a partir de muestras de plasma humano obtenidas después de la administración intravenosa de
10 [5-ciclopropil-1-(quinolin-5-il)-1H-pirazol-4-carbonil]-guanidina a sujetos humanos. La estructura de este compuesto se verificó de modo independiente mediante síntesis química. En otro aspecto de esta invención, la [5-ciclopropil-1-(2-quinolon-5-il)-1H-pirazol-4-carbonil]guanidina puede prepa-
15 rarse mediante la administración de [5-ciclopropil-1-(quinolin-5-il)-1H-pirazol-4-carbonil]guanidina a un ser humano, y el aislamiento del metabolito deseado del plasma. Como alternativa, no es necesario aislar el metabolito del ser humano, puesto que se produce in vivo.

20 En general, el compuesto de esta invención puede prepararse mediante procesos que incluyen procesos análogos a los conocidos en la técnica química, en particular a la luz de la descripción contenida en la presente. Se suministran ciertos procesos para la preparación del compuesto de esta
25 invención como otras características de la invención, y se ilustran mediante el siguiente esquema de reacción. Otros procesos se describen en la sección experimental.

Una descripción detallada del aspecto sintético de la invención es la siguiente:



Según el esquema anterior, el compuesto de fórmula IA (preparado como se describe en Capps, J.D.; Hamilton, C.S., J. Am. Chem. Soc., 1938, 60, 2104) se disuelve en un disolvente prótico como etanol, y se trata con un agente reductor apropiado, como cloruro estanoso dihidratado. La mezcla resultante se agita a una temperatura desde aproximadamente 0°C a aproximadamente 115°C, durante aproximadamente 30 minutos a aproximadamente 24 horas. La mezcla resultante se enfría hasta aproximadamente 23°C y se filtra. El material sólido resultante se purifica de una forma adecuada, tal como mediante trituration con ácido clorhídrico (por ejemplo, 1 M acuoso) a aproximadamente 100°C durante aproximadamente 1 hora, enfriando hasta aproximadamente 23°C y filtrando para proporcionar el compuesto de fórmula II como su sal hidroccloruro. Como alternativa, el compuesto de fórmula II puede aislarse a partir de la mezcla de reacción en forma de la base libre mediante una basificación con una base inorgánica, y una

extracción con un disolvente orgánico apropiado. El compuesto de fórmula II también puede aislarse en forma de otras sales. Otros métodos de reducción que pueden llevar a cabo esta reducción son conocidos por los expertos en la técnica, como
5 por ejemplo la hidrogenación catalítica.

El compuesto de fórmula II se diazotiza en ácido clorhídrico y agua, utilizando nitrato de sodio a aproximadamente 0°C durante aproximadamente 15 minutos a aproximadamente 2 horas. La disolución de sal de diazonio
10 resultante se reduce con un agente reductor apropiado, como cloruro estanoso dihidratado en ácido clorhídrico y agua desde aproximadamente 0°C a aproximadamente 23°C, durante aproximadamente 30 minutos a aproximadamente 6 horas. El sólido resultante se recoge mediante filtración y se purifica
15 de una manera adecuada, tal como mediante trituración con ácido clorhídrico (por ejemplo, 1 M acuoso) a aproximadamente 23°C durante aproximadamente 30 minutos. El compuesto de fórmula III se recoge mediante filtración como su sal hidroccloruro. Como alternativa, el compuesto de fórmula III
20 puede aislarse a partir de la mezcla de reacción en forma de la base libre mediante una basificación con una base inorgánica, y una extracción con un disolvente orgánico apropiado. El compuesto de fórmula III también puede aislarse en forma de otras sales. Otros agentes reductores que pueden
25 llevar a cabo esta transformación son conocidos por los expertos en la técnica.

El compuesto de fórmula IV se prepara mediante métodos conocidos por los expertos en la técnica, tal como mediante la reacción de un N,N-dialquilformamida acetal, por ejemplo,
30 N,N-dimetilformamida dimetilacetal, con un éster del ácido 3-ciclopropil-3-oxopropanoico a una temperatura desde aproximadamente 23°C a aproximadamente 115°C, durante aproximadamente 1 hora a aproximadamente 4 horas con o sin un catalizador ácido. Los grupos R¹ y R² son de modo conveniente
35 cualquier grupo alquilo, cicloalquilo, cicloalquilalquilo o arilalquilo. Además, los dos grupos R² pueden unirse para formar una entidad cíclica.

El compuesto de fórmula IV se hace reaccionar con el compuesto de fórmula III en un disolvente alcohólico como el etanol a una temperatura desde aproximadamente 23°C a aproximadamente 115°C, durante aproximadamente 15 minutos a aproximadamente 12 horas. Cuando se utiliza el compuesto de fórmula III en forma de su sal hidrocloreto, resulta ventajoso llevar a cabo la reacción en presencia de un exceso de una base no nucleófila, como la trietilamina. El compuesto de fórmula V se recoge mediante filtración. Como alternativa, el compuesto de fórmula V puede aislarse mediante otros métodos, como la concentración seguida de la adición de agua y la extracción con un disolvente orgánico adecuado. Como alternativa, el compuesto de fórmula V puede prepararse utilizando el compuesto de fórmula III y otros compuestos en lugar del compuesto de fórmula IV, como un compuesto en el cual el grupo $(R^2)_2N$ se sustituye por un grupo R^2O .

El compuesto de fórmula V se hidroliza con una base, como hidróxido de sodio o litio en un disolvente como agua y/o metanol y/o THF, de forma conveniente a aproximadamente 23°C o a una temperatura elevada como la temperatura de reflujo, durante aproximadamente 30 minutos a aproximadamente 12 horas. El ácido de fórmula VI entonces se aísla, por ejemplo, mediante la eliminación de los disolvente orgánicos, la acidificación y la filtración. Como alternativa, el compuesto de fórmula VI puede aislarse a partir de la mezcla de reacción mediante la eliminación de los disolvente orgánicos, la acidificación y la extracción con un disolvente orgánico apropiado.

El ácido de fórmula VI se acopla con guanidina en presencia de un agente de acoplamiento adecuado. Un agente de acoplamiento adecuado es el que transforma un ácido carboxílico en una especie reactiva que forma un enlace amida tras la reacción con una amina.

El agente de acoplamiento puede ser un reactivo que lleva a cabo esta condensación en un proceso en una etapa, cuando se mezcla con el ácido carboxílico y la guanidina. Los ejemplos de agentes de acoplamiento son hidrocloreto de 1-(3-

70
77

dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida/hidroxibenzotriazol (EDC/HBT), diciclohexilcarbodiimida (DCC)/hidroxibenzotriazol (HBT), 2-etoxi-1-etoxicarbonil-1,2-dihidroquinoleína (EEDQ) y dietilfosforilcianuro. El acoplamiento se lleva a cabo en un disolvente inerte, preferiblemente un disolvente aprótico a una temperatura desde aproximadamente -20°C a aproximadamente 50°C, durante aproximadamente 1 a aproximadamente 48 horas, en presencia de un exceso de guanidina como base. Los ejemplos de disolventes incluyen acetonitrilo, diclorometano, dimetilsufóxido, dimetilformamida, cloroformo y sus mezclas.

El agente de acoplamiento también puede ser aquel que convierte el ácido carboxílico en un intermedio activado que se aísla y/o se forma en una primera etapa, y se permite reaccionar con la guanidina en una segunda etapa. Los ejemplos de estos agentes de acoplamiento e intermedios activados son cloruro de tionilo o cloruro de oxalilo para formar el cloruro de ácido, el fluoruro cianúrico para formar un fluoruro de ácido o un cloroformiato de alquilo como cloroformiato de isobutilo o isopropenilo, o anhídrido propanofosfónico (anhídrido del ácido propanofosfónico, PPA) con una base de amina terciaria para formar un anhídrido mixto del ácido carboxílico, o un carbonildimidazol para formar un acilimidazol. Si el agente de acoplamiento es cloruro de oxalilo, resulta ventajoso emplear una pequeña cantidad de dimetilformamida como codisolvente con otro disolvente (como diclorometano), para catalizar la formación del cloruro de ácido. Este derivado de ácido activado puede acoplarse mediante la mezcla con el intermedio en un disolvente apropiado, junto con una base apropiada. Las combinaciones de disolvente/base apropiadas son, por ejemplo, diclorometano, dimetilformamida, acetonitrilo o sus mezclas, en presencia de un exceso de guanidina como base. Otras combinaciones de disolvente/base apropiadas incluyen agua, alcohol(C₁-C₅) o sus mezclas, junto con un codisolvente como diclorometano, tetrahidrofurano o dioxano, y una base como un hidróxido de sodio, potasio o litio en cantidad suficiente para consumir el ácido liberado en la reacción. El uso de

71 1 X

estos agentes de acoplamiento y la selección apropiada de disolventes y temperaturas son conocidos por los expertos en la técnica, o pueden determinarse con facilidad a partir de la bibliografía a la luz de esta descripción. Estas

5 condiciones y otros ejemplos de condiciones útiles para acoplar ácidos carboxílicos se describen en Houben-Weyl, volumen XV, parte II, E. Wunsch ed., G. Theime Verlag, 1974, Stuttgart; M. Bodansky, Principles of Peptide Synthesis, Springer-Verlag, Berlín, 1984; y The Peptides, Analysis,

10 Synthesis and Biology (E. Gross y J. Meienhofer, ed.), volúmenes 1-5 (Academic Press, Nueva York, 1979-1983).

En una realización, el ácido de fórmula VI se activa con un exceso de cloruro de tionilo a una temperatura de aproximadamente la temperatura de reflujo, durante

15 aproximadamente 15 minutos a aproximadamente 3 horas, y el exceso de cloruro de tionilo se elimina mediante concentración. El cloruro de ácido resultante se combina con el hidroccloruro de guanidina en exceso y una base inorgánica, como hidróxido de sodio en tetrahidrofuranó y agua. La

20 reacción se agita de forma conveniente a 23°C o a una temperatura elevada, como la temperatura de reflujo, desde aproximadamente 30 minutos a aproximadamente 6 horas. El compuesto de fórmula I se aísla a partir de esta mezcla de reacción de varias maneras. Por ejemplo, la mezcla de

25 reacción se concentra para eliminar el THF; la capa acuosa se acidifica hasta pH 9, y el sólido se recoge mediante filtración. Como alternativa, el compuesto de fórmula I puede aislarse mediante extracción con un disolvente orgánico. El compuesto de fórmula I puede transformarse en la sal

30 hidroccloruro correspondiente tratando una disolución del mismo en metanol con cloruro de hidrógeno en éter, y la recogida del sólido resultante mediante filtración o concentración. Otras sales pueden prepararse mediante métodos análogos.

35 Los expertos en la técnica comprenderán que también es posible transformar el compuesto de fórmula V directamente en el compuesto de fórmula I tratando el compuesto de fórmula V

con un exceso de guanidina en un disolvente inerte, como un disolvente alcohólico, por ejemplo etanol, o en ausencia de un disolvente desde aproximadamente 60°C a aproximadamente 150°C.

5 Los expertos en la técnica comprenderán que el compuesto de fórmula I puede existir en varias formas tautómeras. Todas estas formas tautómeras se consideran parte de esta invención. Por ejemplo, todas las formas tautómeras del resto carbonilguanidina del compuesto de fórmula I se
10 incluyen en esta invención. Todas las formas tautómeras del resto 2-quinolona del compuesto de fórmula I, como la forma de 2-hidroxiquinoleína, también se incluyen en esta invención.

 Los materiales de partida y los reactivos para los
15 compuestos descritos con anterioridad también pueden adquirirse sin problemas, o pueden sintetizarse con facilidad por los expertos en la técnica utilizando métodos convencionales de síntesis orgánica.

 Además, cuando el compuesto de la invención forma
20 metabolitos, hidratos o solvatos, éstos también se encuentran dentro del alcance de la invención.

 Algunos de los compuestos (por ejemplo, profármacos) de esta invención son ácidos, y forman una sal con un catión farmacéuticamente aceptable. La mayoría de los compuestos de
25 esta invención son básicos, y forman una sal con un anión farmacéuticamente aceptable. Todas estas sales, incluyendo las disales, se encuentran dentro del alcance de esta invención y pueden prepararse mediante métodos convencionales. Por ejemplo, pueden prepararse simplemente
30 poniendo en contacto las entidades ácidas y básicas, en un medio acuoso, no acuoso o parcialmente acuoso. Las sales se recuperan mediante filtración, mediante precipitación con un disolvente seguido de filtración, mediante evaporación del disolvente, o en el caso de las disoluciones acuosas,
35 mediante liofilización, según sea apropiado.

 El compuesto de fórmula I, su profármaco, o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o de dicho

73
72

profármaco, inhiben el sistema de transporte de intercambio de sodio/protón (Na^+/H^+), y por tanto resultan útiles como agentes terapéuticos o profilácticos para enfermedades provocadas por la aceleración del sistema de transporte de intercambio de sodio/protón (Na^+/H^+), por ejemplo enfermedades cardiovasculares [por ejemplo, arteriosclerosis, hipertensión, arritmia (por ejemplo, arritmia isquémica, arritmia debida a un infarto de miocardio, arritmia después de PTCA o después de trombólisis, etc.), angina de pecho, hipertrofia cardíaca, infarto de miocardio, insuficiencia cardíaca (por ejemplo, insuficiencia cardíaca congestiva, insuficiencia cardíaca aguda, hipertrofia cardíaca, etc.), reestenosis después de PTCA, choque (por ejemplo, choque hemorrágico, choque por endotoxinas, etc.)], enfermedades renales (por ejemplo, diabetes mellitus, nefropatía diabética, insuficiencia renal aguda isquémica, etc.), trastornos de órganos asociados con isquemia o reperfusión isquémica [(por ejemplo, trastornos asociados con la reperfusión isquémica del músculo cardíaco, insuficiencia renal aguda, o trastornos inducidos por tratamientos quirúrgicos como cirugías de bypass de la arteria coronaria (CABG), cirugías vasculares, transplante de órganos, cirugías no cardíacas o angioplastia percutánea transluminal coronaria (PTCA)], enfermedades cerebrovasculares (por ejemplo, accidentes cerebrovasculares isquémicos, choque hemorrágico, etc.), trastornos cerebroisquémicos (por ejemplo, trastornos asociados con infarto cerebral, trastornos provocados después de una apoplejía cerebral como secuelas, o edema cerebral). El compuesto de fórmula I, su profármaco, o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o de dicho profármaco, también pueden utilizarse como agentes para la protección miocárdica durante las cirugías de injerto de bypass de la arteria coronaria (CABG), las cirugías vasculares, la angioplastia percutánea transluminal coronaria (PTCA), el transplante de órganos o las cirugías no cardíacas.

Preferiblemente, el compuesto de fórmula I, su

74

76

profármaco, o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o de dicho profármaco, pueden utilizarse como agentes para la protección miocárdica antes, durante o después de las cirugías de injerto de bypass de la arteria coronaria (CABG), las cirugías vasculares, la angioplastia percutánea transluminal coronaria (PTCA), el transplante de órganos o las cirugías no cardíacas.

Preferiblemente, el compuesto de fórmula I, su profármaco, o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o de dicho profármaco, pueden utilizarse como agentes para la protección miocárdica en pacientes que presentan acontecimientos cardíacos en desarrollo (síndromes coronarios agudos, por ejemplo infarto de miocardio o angina inestable) o isquémicos cerebrales (por ejemplo, accidentes cerebrovasculares).

Preferiblemente, el compuesto de fórmula I, su profármaco, o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o de dicho profármaco, pueden utilizarse como agentes para la protección miocárdica en pacientes con una enfermedad cardíaca coronaria diagnosticada (por ejemplo, infarto de miocardio o angina inestable previas) o en pacientes que tienen un alto riesgo de infarto de miocardio (por ejemplo, los mayores de 65 años y dos o más factores de riesgo de padecer una enfermedad cardíaca coronaria).

Además de esto, el compuesto de fórmula I, su profármaco, o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o de dicho profármaco resultan notables por su fuerte efecto inhibitorio sobre la proliferación de células, por ejemplo la proliferación de células de fibroblastos y la proliferación de células del músculo liso de los vasos sanguíneos. Por esta razón, el compuesto de fórmula I, su profármaco, o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o de dicho profármaco son agentes terapéuticos valiosos para su utilización en enfermedades en las cuales la proliferación celular representa una causa primaria o secundaria, y por tanto pueden utilizarse como agentes antiateroscleróticos, y como agentes contra las

complicaciones tardías de la diabetes, las enfermedades cancerosas, las enfermedades fibróticas como la fibrosis pulmonar, la fibrosis hepática o la fibrosis renal, la nefrosclerosis glomerular, las hipertrofias o hiperplasias de órganos, en particular la hipertrofia o hiperplasia de la próstata, la fibrosis pulmonar, las complicaciones diabéticas o la estenosis recurrente después de PTCA, o las enfermedades provocadas por lesiones de la células endoteliales.

La utilidad del compuesto de fórmula I, su profármaco, o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o de dicho profármaco como agentes médicos en el tratamiento de enfermedades, como las detalladas en la presente en mamíferos (por ejemplo, seres humanos), por ejemplo, la protección miocárdica durante cirugía o la protección miocárdica en pacientes que presentan acontecimientos cardíacos en desarrollo o acontecimientos isquémicos cerebrales, o la cardioprotección crónica en pacientes con una enfermedad cardíaca coronaria diagnosticada, se demuestra por la actividad del compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto, en un ensayo convencional in vitro y otros ensayos de cardioprotección preclínicos [véase el ensayo in vivo en Klein, H. et al., Circulation, 92:912-917 (1995); el ensayo de corazón aislado en Scholz, W. et al., Cardiovascular Research, 29:260-268 (1995); el ensayo antiaritmico en Yasutake M. et al., Am. J. Physiol., 36:H2430-H2440 (1994); el ensayo de RMN en Kolke et al., J. Thorac. Cardiovasc. Surg., 112:765-775 (1996)]. Estos ensayos también proporcionan un medio mediante el cual las actividades del compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o de dicho profármaco pueden compararse con las actividades de otros compuestos conocidos. Los resultados de estas comparaciones resultan útiles para determinar los niveles de dosificación en mamíferos, incluyendo los seres humanos, para el tratamiento de estas enfermedades.

Medida de la actividad inhibitoria de NHE-1 humano

Las metodologías para la medida de la actividad NHE-1

humana y la potencia inhibitoria se basan en las publicadas por Watson et al., Am. J. Physiol., 24:G229-G238, 1991), en las cuales la recuperación mediada por NHE del pH intracelular se mide después de la acidificación intracelular. Por tanto, se colocan fibroblastos que expresan de forma estable el NHE-1 humano (Counillon, L. et al., Mol. Pharmacol., 44:1041-1045 (1993)) en placas de 96 pocillos revestidas de colágeno (50.000/pocillo) y se cultivan hasta la confluencia en medio de crecimiento (DMEM con alto contenido en glucosa, suero bovino fetal al 10%, 50 u/ml de penicilina y estreptomycin). Las placas confluentes se incuban durante 30 minutos a 37°C con la sonda fluorescente sensible al pH BCECF (5 μ M; Molecular Probes, Eugene, OR). Las células cargadas de BCECF se incuban durante 30 minutos a 37°C en medio de carga de ácido (cloruro de colina 70 mM, NHCl, 50 mM, KCl 5 mM, MgCl₂ 1 mM, CaCl₂ 1,8 mM, glucosa 5 mM, HEPES 10 mM, pH 7,5), y después se colocan en un lector de placas de formación de imágenes fluorescentes (Molecular Devices, CA). La fluorescencia de BCECF se controla utilizando unas longitudes de onda de excitación y de emisión de 485 nm y 525 nm, respectivamente. La acidificación intracelular se inicia mediante la sustitución rápida del medio de carga de ácido con medio de recuperación (NaCl 120 mM, KCl 5 mM, MgCl₂ 1 mM, CaCl₂ 1,8 mM, glucosa 5 mM, HEPES 10 mM, pH 7,5) $\pm$ el compuesto de ensayo, y se controla la recuperación mediada por NHE del pH intracelular como el aumento de la fluorescencia de BCECF posterior dependiente del tiempo. La potencia de los inhibidores de NHE-1 humano se calcula como la concentración que reduce la recuperación del pH intracelular en 50% (CI₅₀). Bajo estas condiciones, los inhibidores de NHE patrón amilorida y HOE-642 tienen unos valores de CI₅₀ para el NHE-1 humano de 50 μ M y 0,5 μ M, respectivamente. El compuesto de fórmula I muestra un valor de CI₅₀ de 200 nM en el anterior ensayo.

Se ha indicado que unos breves periodos de isquemia miocárdica seguidos de una perfusión de la arteria coronaria protegen al corazón de una posterior isquemia

miocárdica grave (Murry et al., Circulation, 74:1124-1136, 1986). Este fenómeno se conoce como preconditionamiento isquémico. 77

Los efectos terapéuticos de los compuestos de esta invención para prevenir las lesiones del tejido cardíaco que aparecen como resultado de un ataque isquémico pueden demostrarse *in vitro* siguiendo las líneas presentadas en Liu et al. (Cardiovasc. Res., 28:1057-1061, 1994), como se describe de forma específica en la presente. La cardioprotección, indicada como una reducción en el miocardio infartado, puede inducirse de forma farmacológica utilizando agonistas del receptor de la adenosina en corazones de conejo aislados perfusionados retrógradamente, como un modelo *in vitro* de preconditionamiento isquémico miocárdico (Liu et al., Cardiovasc. Res., 28:1057-1061, 1994). El ensayo *in vitro* descrito a continuación demuestra que un compuesto de ensayo activo también puede inducir la cardioprotección de forma farmacológica, es decir, reduce el tamaño del infarto de miocardio, cuando se administra a un corazón aislado de conejo. Los efectos del compuesto de ensayo se comparan con el preconditionamiento isquémico y el agonista de adenosina A1/A3, APNEA (N⁶-[2-(4-aminofenil)etil]adenosina), que se ha demostrado que induce la cardioprotección de forma farmacológica en el corazón aislado de conejo (Liu et al., Cardiovasc. Res., 28:1057-1061, 1994). La metodología exacta se describe a continuación.

El protocolo utilizado para estos experimentos sigue en gran medida el descrito por Liu et al., Cardiovasc. Res., 28:1057-1061, 1994. Se anestesian conejos blancos de Nueva Zelanda macho (3-4 kg) con pentobarbital de sodio (30 mg/kg, por vía intravenosa). Después de lograr una anestesia profunda (determinada por la ausencia del reflejo del parpadeo ocular), el animal se entuba y se ventila con O₂ al 100% utilizando un ventilador de presión positiva. Se lleva a cabo una toracotomía izquierda, se expone el corazón, y se coloca un lazo (seda 2-0) de forma laxa alrededor de una rama prominente de la arteria coronaria izquierda, a

78

aproximadamente una distancia de 2/3 hacia el ápice del corazón. El corazón se retira del pecho y se monta con rapidez (<30 seg) sobre un aparato de Langendorff. El corazón se reperfusióna retrógradamente de una manera no circulante
5 con una disolución de Krebs modificada (NaCl 118,5 mM, KCl 4,7 mM, MgSO₄ 1,2 mM, KH₂PO₄ 1,2 mM, NaHCO₃ 24,8 mM, CaCl₂ 2,5 mM y glucosa 10 mM), a una presión constante de 80 mm de Hg y una temperatura de 37°C. El pH del perfusionado se mantiene a 7,4-7,5 mediante burbujeo con O₂ al 95%/CO₂ al 5%. La
10 temperatura del corazón se controla muy bien utilizando depósitos calentados para la disolución fisiológica y una camisa de agua alrededor de los tubos de perfusión y del corazón aislado. Se determina la frecuencia cardíaca y las presiones ventriculares izquierdas mediante un globo de látex
15 que se inserta en el ventrículo izquierdo y se conecta mediante un tubo de acero inoxidable a un transductor de presión. El globo intraventricular se infla para proporcionar una presión sistólica de 80-100 mm de Hg, y una presión diastólica de ≤10 mm de Hg. El flujo coronario total también
20 se controla continuamente utilizando una sonda de flujo en línea y normalizada para el peso del corazón.

Se deja que el corazón se equilibre durante 30 minutos, tras lo cual el corazón debe mostrar unas presiones ventriculares izquierdas dentro de los parámetros indicados
25 más arriba. Si la frecuencia cardíaca baja más de 180 lpm en cualquier momento antes del periodo de 30 minutos de isquemia regional, el corazón se marca a un paso de 200 lpm durante el resto del experimento. El preconditionamiento isquémico se induce por el cese total de perfusión cardíaca (isquemia
30 global) durante 5 minutos, seguido por reperfusión durante 10 minutos. Se logra la isquemia regional apretando el lazo alrededor de la rama de la arteria coronaria. Después de 30 minutos de isquemia regional, se afloja el lazo y el corazón se reperfusióna durante 120 minutos más.

35 La cardioprotección farmacológica se induce mediante la infusión del compuesto de ensayo a unas concentraciones predeterminadas, comenzando 30 minutos antes de la isquemia

79

regional de 30 minutos, y continuando hasta el final del periodo de perfusión de 120 minutos. Los corazones que reciben el compuesto de ensayo no se someten al periodo de preconditionamiento isquémico. El compuesto patrón, APNEA
5 (500 nM), se perfusiona a través de los corazones (que no reciben el compuesto de ensayo) durante un periodo de 5 minutos, que termina 10 minutos antes de la isquemia regional de 30 minutos.

Al final del periodo de perfusión de 120 minutos, el
10 lazo de la arteria coronaria se aprieta, y una suspensión al 0,5% de partículas de sulfato de cadmio y cinc fluorescentes (1-10 μ M) Duke Scientific Corp. (Palo Alto, CA) se perfusiona a través del corazón; esto tiñe todo el miocardio, excepto el área de riesgo de desarrollo de un infarto (área de riesgo).
15 El corazón se retira del aparato de Langendorff, se seca con papel secante, se envuelve en una lámina de aluminio y se almacena durante la noche a -20°C . Al día siguiente, el corazón se corta en secciones transversales de 2 mm desde el ápice hasta la parte superior de los ventrículos. Los cortes
20 se tiñen con cloruro de trifeniltetrazolio al 1% (TTC) en disolución salina tamponada con fosfato durante 20 minutos a 37°C . Puesto que el TTC reacciona con el tejido vivo (que contienen deshidrogenasas dependientes de NAD), esta tinción diferencia entre el tejido vivo (teñido de rojo) y el tejido
25 muerto (tejido infartado sin teñir). Se calcula el área infartada (sin tinte) y el área de riesgo (sin partículas fluorescentes) en cada corte de ventrículo izquierdo, utilizando un analizador de imágenes precalibrado. Para normalizar las lesiones isquémicas para detectar diferencias
30 en el área de riesgo entre los corazones, los datos se expresan como la proporción de área infartada frente al área de riesgo (AI%/ADR). Todos los datos se expresan como la media $\pm$ EE, y se comparan de forma estadística utilizando un ensayo no paramétrico de Mann-Whitney con una corrección
35 Bonferroni para múltiples comparaciones. Se considera una significancia de $p < 0,05$.

Los resultados del anterior ensayo *in vitro* pueden

utilizarse para demostrar que los compuestos de esta invención inducen una cardioprotección significativa con relación al grupo control.

La administración del compuesto de fórmula I, su profármaco, o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o de dicho profármaco puede realizarse mediante cualquier método que administre el compuesto de fórmula I, su profármaco, o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o de dicho profármaco de manera preferente al tejido deseado (por ejemplo tejidos hepático y/o cardíaco). Estos métodos incluyen las vías oral, parenteral, intraduodenal, etc.. En general, el compuesto de fórmula I, su profármaco, o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o de dicho profármaco se administran en una dosis única (por ejemplo, una vez diaria) o en dosis múltiples, o mediante infusión constante, por ejemplo, en una disolución salina isotónica.

El compuesto de fórmula I, su profármaco, o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o de dicho profármaco resultan útiles, por ejemplo, para reducir o minimizar las lesiones producidas directamente a cualquier tejido que puede ser susceptible a las lesiones de reperfusión/isquemia (por ejemplo, corazón, cerebro, pulmón, riñón, hígado, intestino, músculo esquelético, retina), por ejemplo por mediación del NHE-1, como resultado de un acontecimiento isquémico (por ejemplo, infarto de miocardio). El compuesto activo por tanto puede emplearse con utilidad profiláctica para prevenir (es decir, prospectiva o profilácticamente), para detener o parar las lesiones tisulares (por ejemplo, del tejido del miocardio) en pacientes que se encuentran en riesgo de isquemia (por ejemplo, isquemia miocárdica).

En general, el compuesto de fórmula I, su profármaco, o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o de dicho profármaco se administran por vía oral o parenteral (por ejemplo, por vía intravenosa, intramuscular, subcutánea o intramedular). La administración tópica también puede

81
resultar indicada, por ejemplo, cuando un paciente sufre trastornos gastrointestinales o cuando la medicación se aplica mejor a la superficie de un tejido u órgano, según lo determine el médico encargado.

5 La programación y cantidad administrada del compuesto de fórmula I, su profármaco, o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o de dicho profármaco dependerá, por supuesto, del sujeto que se está tratando, de la gravedad de la enfermedad, de la vía de administración y del criterio
10 del médico encargado. Así, debido a la variabilidad entre pacientes, las dosificaciones que se indican a continuación con una guía, y el médico puede valorar otras dosis del fármaco para lograr el tratamiento que considere apropiado para el paciente. Según el grado de tratamiento deseado, el
15 médico debe considerar una diversidad de factores, como la edad del paciente, la presencia de una enfermedad preexistente, así como la presencia de otras enfermedades (por ejemplo, una enfermedad cardiovascular).

De forma típica, se utiliza una cantidad del compuesto
20 de fórmula I, su profármaco, o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o de dicho profármaco que es eficaz para la protección isquémica. Una dosificación preferida es desde aproximadamente 0,01 a 100 mg/kg/día del compuesto de fórmula I, su profármaco, o una sal
25 farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o de dicho profármaco de esta invención. Una dosificación especialmente preferida es desde aproximadamente 0,01 a 50 mg/kg/día del compuesto de fórmula I, su profármaco, o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o de dicho
30 profármaco de esta invención.

En un modo de administración, el compuesto de fórmula I, su profármaco, o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o de dicho profármaco puede administrarse justo antes de una cirugía cardíaca (por ejemplo, en las
35 veinticuatro horas anteriores a la cirugía), durante o después de la cirugía cardíaca (por ejemplo, en las veinticuatro horas siguientes a la cirugía), cuando existe un

riesgo de isquemia miocárdica. En un modo de administración especialmente preferido, se administra una infusión con una dosis de carga de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 300 mg durante aproximadamente un minuto a aproximadamente una hora antes de la cirugía, seguida de una infusión constante desde aproximadamente 1 mg/kg/día a aproximadamente 100 mg/kg/día durante el resto de los periodos prequirúrgicos, quirúrgicos y postquirúrgicos, incluyendo por ejemplo un tratamiento postquirúrgico desde aproximadamente 2 a aproximadamente 7 días. El compuesto de la invención también puede administrarse de un modo crónico diario.

El compuesto de fórmula I, su profármaco, o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o de dicho profármaco en general se administran en forma de una composición farmacéutica que comprende el compuesto de fórmula I, su profármaco, o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o de dicho profármaco, junto con un portador, vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable. Por tanto, el compuesto de fórmula I, su profármaco, o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o de dicho profármaco pueden administrarse en cualquier forma de dosificación oral, parenteral, rectal o transdérmica convencional.

Para la administración oral, una composición farmacéutica puede tomar la forma de disoluciones, suspensiones, comprimidos, píldoras, cápsulas, polvos y similares. Se emplean comprimidos que contienen diversos excipientes como citrato de sodio, carbonato de calcio y fosfato de calcio, junto con diversos disgregantes como almidón y preferiblemente almidón de patata o tapioca, y ciertos silicatos complejos, junto con agentes ligantes como polivinilpirrolidona, sacarosa, gelatina y goma arábiga. Además, los agentes lubricantes como estearato de magnesio, laurilsulfato de sodio y talco a menudo resultan muy útiles para la preparación de comprimidos. Las composiciones sólidas de tipo similar también se emplean como cargas en cápsulas de gelatina de relleno blando y duro; los materiales preferidos

a este respecto también incluyen la lactosa o azúcar de la leche, así como los polietilenglicoles de elevado peso molecular. Cuando se desean unas suspensiones acuosas y/o elixires para la administración oral, los compuestos de la invención pueden combinarse con diversos agentes 5 edulcorantes, agentes aromatizantes, agentes colorantes, agentes emulsionantes y/o agentes suspensores, así como con diluyentes como el agua, etanol, propilenglicol, glicerina y diversas combinaciones de los mismos.

10 Para la administración parenteral, pueden emplearse disoluciones, por ejemplo en aceite de sésamo o de cacahuete o en propilenglicol acuoso, así como disoluciones acuosas estériles de las correspondientes sales solubles en agua. Estas disoluciones acuosas pueden tamponarse de forma 15 adecuada, si resulta necesario, y el diluyente líquido hacerse en primer lugar isotónico con suficiente disolución salina o glucosa. Estas disoluciones acuosas son especialmente adecuadas para la inyección intravenosa, intramuscular, subcutánea e intraperitoneal. A este respecto, 20 los medios acuosos estériles empleados pueden obtenerse con facilidad mediante técnicas convencionales muy conocidas por los expertos en la técnica.

Para la administración transdérmica (por ejemplo, tópica), se preparan disoluciones acuosas o parcialmente 25 acuosas (normalmente a una concentración de aproximadamente 0,1% a 5%) diluidas estériles, que por lo demás son similares a las disoluciones parentales anteriores.

Los métodos para preparar diversas composiciones farmacéuticas con una cierta cantidad de principio activo son 30 conocidos, o serán evidentes a la luz de esta descripción para los expertos en la técnica. Para obtener ejemplos de métodos de preparación de composiciones farmacéuticas, véase Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easter, PA, 15ª edición (1975).

35 Las composiciones farmacéuticas según la invención pueden contener, por ejemplo, 0,0001%-95% del compuesto de fórmula I, su profármaco, o una sal farmacéuticamente

84

*

aceptable de dicho compuesto o de dicho profármaco. En cualquier caso, la composición o formulación que se va a administrar contendrá una cantidad eficaz para tratar la enfermedad/trastorno del sujeto que se está tratando.

- 5 El compuesto de fórmula I, su profármaco, o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o de dicho profármaco en general se administran en una formulación conveniente. Los siguientes ejemplos de formulación son sólo ilustrativos, y no pretenden limitar el alcance de la
10 presente invención.

En las formulaciones que siguen, "principio activo" significa el compuesto de fórmula I, su profármaco, o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o de dicho profármaco.

15 **Formulación 1: cápsulas de gelatina**

Se preparan cápsulas de gelatina dura utilizando 1 siguiente:

Ingrediente	Cantidad (mg/cápsula)
Principio activo	0,25-100
Almidón, NF	0-650
Polvo de almidón fluido	0-50
Fluido de silicona 35 cm ² /s	0-15

- 20 Se prepara una formulación de cápsulas utilizando los siguientes ingredientes:

Formulación 2: comprimidos

Ingrediente	Cantidad (mg/comprimido)
Principio activo	0,25-100
Celulosa microcristalina	200-650
Dióxido de silicio de pirólisis	10-650

Ácido esteárico	5-15
-----------------	------

Los componentes se mezclan y se comprimen para formar comprimidos.

Como alternativa, se preparan comprimidos que contienen cada uno 0,25-100 mg del principio activo como sigue:

Formulación 3: comprimidos

Ingrediente	Cantidad (mg/comprimido)
Principio activo	0,25-100
Almidón	45
Celulosa microcristalina	35
Polivinilpirrolidona (como una disolución al 10% en agua)	4
Carboxihipromelosa de sodio	4,5
Esterato de magnesio	0,5
Talco	1

El principio activo, el almidón y la celulosa se hacen pasar a través de un tamiz de EEUU de malla n° 54 y se mezclan a fondo. La disolución de polivinilpirrolidona se mezcla con los polvos resultantes, que entonces se hacen pasar a través de un tamiz de EEUU de malla n° 14. Los gránulos producidos se secan a 50°C-60°C y se hacen pasar a través de un tamiz de EEUU de malla n° 18. La carboxihipromelosa de sodio, el estearato de magnesio y el talco, que previamente se han hecho pasar a través de un tamiz de EEUU de malla n° 60, se añaden entonces a los gránulos, que después de mezclar se comprimen en una máquina de fabricación de comprimidos para producir los comprimidos.

Se preparan suspensiones que contienen cada una 0,25-100 mg del principio activo por 5 ml de dosis como sigue:

Formulación 4: suspensiones

Ingrediente	Cantidad (mg/5 ml)
Principio activo	0,25-100 mg
Carboxihipromelosa de sodio	50 mg
Jarabe	1,25 mg
Disolución de ácido benzoico	0,10 ml
Aroma	C.V.
Colorante	C.V.
Agua purificada hasta	5 ml

5 El principio activo se hace pasar a través de un tamiz de EEUU de malla n° 45, y se mezcla con la carboxihipromelosa de sodio y el jarabe para formar una pasta fina. La disolución de ácido benzoico, el aroma y el colorante se diluyen con un poco de agua y se añaden con agitación. Entonces se añade agua suficiente para producir el volumen requerido.

10 Se prepara una disolución en aerosol que contiene los siguientes ingredientes:
Formulación 5: aerosol

Ingrediente	Cantidad (% en peso)
Principio activo	0,25
Etanol	25,75
Propelente 22 (clorodifluorometano)	74,00

15 El principio activo se mezcla con el etanol y la mezcla se añade a una porción del propelente 22, se enfría hasta 30°C y se traslada a un dispositivo de llenado. Después se introduce la cantidad deseada en un recipiente de acero inoxidable y se diluye con el resto del propelente. Entonces

se ajustan las unidades de válvula al recipiente.

Se preparan supositorios como sigue:

Formulación 6: supositorios

Ingrediente	Cantidad (mg/supositorio)
Principio activo	250
Glicéridos de ácido graso saturado	2.000

- 5 El principio activo se hace pasar a través de un tamiz de EEUU de malla nº 60, y se suspende en los glicéridos de ácido graso saturado que previamente se funden utilizando el mínimo calor necesario. La mezcla entonces se vierte en un molde para supositorios con una capacidad nominal de 2 g y se
10 deja enfriar.

Se prepara una formulación intravenosa como sigue:

Formulación 7: disolución intravenosa

Ingrediente	Cantidad
Principio activo	25 mg
Disolución salina isotónica	1.000 ml

- 15 La disolución de los ingredientes anteriores se administra por vía intravenosa al paciente.

PROCEDIMIENTOS EXPERIMENTALES GENERALES

- Los espectros de RMN de ¹H de 300 y 400 MHz se registraron utilizando un espectrómetro Varian Unity+ 300 ó
20 400 (Varian Co., Palo Alto, CA), equipado con dos canales RF, detección indirecta, y gradientes de campo pulsados (sólo el eje Z). Los espectros en general se lograron cerca de la temperatura ambiente (21°C), y se emplearon las rutinas convencionales de autobloqueo y autoenfoco para las muestras
25 desenfocadas. Los desplazamientos químicos se expresan en partes por millón campo abajo del trimetilsilano. Las formas de los picos se indican como sigue: s, singulete; d, doblete;

t, triplete; q, cuadruplete; m, multiplete; sa, singulete ancho. Las resonancias denominadas intercambiables no aparecen en un experimento de RMN separado, en el que la muestra se agitó con varias gotas de D₂O en el mismo disolvente. Los espectros de masas de ionización química a presión atmosférica (APCIMS) se obtuvieron en un espectrómetro Fisons Platform II o Micromass ZMD (Microsmass, Manchester, Reino Unido). Cuando se describe la intensidad de los iones que contienen cloro o bromo, se observó la proporción de intensidad esperada (aproximadamente 3:1 para los iones que contienen ³⁵Cl/³⁷Cl, y 1:1 para los iones que contienen ⁷⁹Br/⁸¹Br), y M se basa en ³⁵Cl y ⁷⁹Br. En algunos casos, sólo aparecen los picos de RMN de ¹H y de APCIMS representativos.

La cromatografía en columna se llevó a cabo en gel de sílice Baker (40 µm) (J.T. Baker, Phillipsburg, NJ) o en gel de sílice 60 (EM Sciences, Gibbstown, NJ), en columnas de vidrio o en columnas Flash 12, 40 ó 75 (Biotage) (Charlottesville, VA) a baja presión de nitrógeno. La cromatografía radial se llevó a cabo utilizando un Chromatotron (Harrison Research, Palo Alto, CA). A menos que se especifique lo contrario, los reactivos se utilizaron tal y como se obtuvieron de fuentes comerciales. La dimetilformamida, el 2-propanol, el metanol, el dimetilsulfóxido, el 1,2-dicloroetano, el tetrahidrofurano, el tolueno, el diclorometano y otros disolventes de reacción eran de calidad anhidra, suministrados por Aldrich Chemical Company (Milwaukee, Wisconsin). Los microanálisis los llevaron a cabo en Schwarzkopf Microanalytical Laboratory, Woodside, Nueva York. Las expresiones "concentrado al vacío" y "eliminado al vacío" hacen referencia a la eliminación del disolvente a presión reducida en un evaporador rotatorio con un baño a una temperatura menor que 90°C. Las reacciones que se llevaron a cabo a "0-20°C" o "0-25°C" se realizaron con un enfriamiento inicial del recipiente en un baño de hielo aislado, que se dejó calentar hasta la temperatura ambiente durante varias horas. Las abreviaturas "min" y "h" significan

89 ~~76~~

"minutos" y "horas", respectivamente.

EJEMPLO 1

Hidrocloreuro de 5-amino-2-quinolona

Una disolución de 5-nitro-2-quinolona (12,37 g, 65 mmol) (preparada como se describe en Capps, J.D.; Hamilton, C.S., *J. Am. Chem. Soc.*, 1938, 60, 2104) en EtOH (176 ml) bajo una atmósfera de nitrógeno, se trató con $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (73,4 g, 325 mmol). La mezcla de reacción heterogénea se dejó en agitación a 23°C durante 2 horas, y se calentó a reflujo durante 2 horas. La mezcla heterogénea resultante se enfrió hasta 23°C y se filtró. El material sólido se trituró en HCl (1 M acuoso, 78 ml, 78 mmol) a reflujo durante 1 hora, se enfrió hasta 23°C y se filtró para producir 10,08 g del producto deseado (rendimiento 78%).

RMN de ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 6,42 (d, $J=10$, 1H), 6,71 (d, $J=7,6$, 1H), 6,81 (d, $J=8$, 1H), 7,27 (d, $J=8$, 1H), 8,04 (d, $J=10$, 1H), 11,71 (sa, 1H).

APCIMS 161 $[\text{M}+1]^+$

EJEMPLO 2

Hidrocloreuro de 5-hidrazino-2-quinolona

Una disolución de hidrocloreuro de 5-amino-2-quinolona (10,08 g, 51,2 mmol) en HCl (concentrado, 42,7 ml) y H_2O (18,2 ml) a 0°C se trató gota a gota con una disolución de NaNO_2 (3,53 g, 51,2 mmol) en H_2O (26,4 ml), mientras que se mantenía la temperatura por debajo de 5°C. La suspensión roja resultante se dejó en agitación a 0°C durante 1 hora.

En otro matraz de fondo redondo de tres bocas, equipado con un agitador mecánico, se enfrió hasta 0°C una suspensión de $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (25,41 g, 112,6 mmol) en HCl (concentrado, 34,2 ml) y H_2O (93,9 ml). La suspensión se trató gota a gota con la suspensión de sal de diazonio roja preparada anteriormente, mientras que se mantiene la temperatura por debajo de 5°C. La mezcla de reacción se calentó hasta 23°C y se dejó en agitación durante 3 horas. La suspensión resultante se filtró. El sólido recogido se trituró con HCl (1 M acuoso, 61,4 ml, 61,4 mmol) a 23°C durante 30 minutos. El sólido se recogió mediante filtración, para producir 7,88

ac ~~7/8~~

g del producto deseado (rendimiento 73%).

RMN de ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 6,43 (d, $J=10$, 1H), 6,63 (d, $J=8$, 1H), 6,88 (d, $J=8$, 1H), 7,38 (t, $J=8$, 1H), 7,98 (d, $J=10$, 1H), 8,97 (sa, 1H), 10,40 (sa, 1H), 11,77 (sa, 1H).

5 APCIMS 176 $[\text{M}+1]^+$

EJEMPLO 3

5-ciclopropil-1-(2-quinolon-5-il)-1H-pirazol-4-carboxilato de metilo

Una disolución de 3-ciclopropil-2-(dimetilaminometilen)-3-oxopropanoato de metilo (7,85 g, 39,8 mmol) en EtOH (257 ml) se trató bajo una atmósfera de nitrógeno con trietilamina (7,77 ml, 55,8 mmol), seguido de hidrocloreuro de 5-hidrazino-2-quinolona (7,88 g, 37,2 mmol). La mezcla de reacción heterogénea resultante se calentó a reflujo durante 4 horas y se enfrió hasta 23°C. Un sólido de color amarillo pálido precipitó y se recogió mediante filtración para producir 5,06 g del producto deseado (rendimiento 44%).

20 RMN de ^1H (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 0,59-0,73 (m, 4H), 1,87 (m, 1H), 3,79 (s, 1H), 6,54 (d, $J=10$, 1H), 7,17 (d, $J=10$, 1H), 7,34 (d, $J=7,5$, 1H), 7,49 (d, $J=8$, 1H), 7,66 (t, $J=8$, 1H), 8,08 (s, 1H), 12,10 (sa, 1H).

APCIMS 310 $[\text{M}+1]^+$

EJEMPLO 4

25 Ácido 5-ciclopropil-1-(2-quinolon-5-il)-1H-pirazol-4-carboxílico

Una suspensión de 5-ciclopropil-1-(2-quinolon-5-il)-1H-pirazol-4-carboxilato de metilo (5,06 g, 16,4 mmol) en THF (81,8 ml) y MeOH (40,9 ml) se trató con LiOH (1 M acuoso, 81,8 ml, 81,8 mmol) y se calentó a reflujo durante 2,5 horas. La mezcla heterogénea resultante se enfrió hasta 23°C. El MeOH y el THF se eliminaron al vacío. La suspensión resultante se enfrió hasta 0°C y se acidificó hasta pH 3-4 utilizando HCl (concentrado). La mezcla se filtró. El sólido se secó para producir 4,94 g del producto deseado (rendimiento 100%).

35 RMN de ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 0,58 (d, $J=4,4$, 2H), 0,64

(d, J=8, 2H), 1,82 (m, 1H), 6,50 (d, J=10, 1H), 7,12 (d, J=10, 1H), 7,27 (d, J=7,6, 1H), 7,44 (d, J=8,4, 1H), 7,60 (t, J=8, 1H), 7,97 (s, 1H), 12,03 (sa, 1H), 12,38 (sa, 1H).

APCIMS 296 [M+1]⁺.

5

EJEMPLO 5

Hidrocloreuro de [5-ciclopropil-1-(2-quinolon-5-il)-1H-pirazol-4-carbonilguanidina]

Una disolución del ácido 5-ciclopropil-1-(2-quinolon-5-il)-1H-pirazol-4-carboxílico (13,27 g, 45,0 mmol) en SOCl₂ (60 ml) se calentó a reflujo durante una hora. El exceso de SOCl₂ se eliminó al vacío. El residuo se trató con tolueno seco y se concentró al vacío. Una disolución del residuo sólido en THF (50 ml) se trató con una disolución de hidrocloreuro de guanidina (15,47 g, 162 mmol) en NaOH (2 M acuoso, 162 ml, 324 mmol) bajo una atmósfera de nitrógeno. La mezcla resultante se agitó a 23°C durante 2 horas. La mezcla de reacción entonces se concentró al vacío para eliminar el THF. La capa acuosa se enfrió hasta 0°C y se acidificó hasta pH 9. Un sólido de color amarillo pálido precipitó y se recogió para producir 11,41 g de la base libre del compuesto deseado. Una disolución del sólido en MeOH (700 ml) se trató con HCl (1 M en éter, 84,9 ml, 84,9 mmol). El volumen del disolvente se redujo al vacío. El precipitado de color marrón pálido resultante se recogió para producir 8,49 g (rendimiento 51%) (puede obtenerse más producto en forma de la base libre mediante extracción de la capa acuosa utilizando EtOAc-THF (1:1).

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 0,51 (m, 2H), 0,70 (dd, J=2, 8,4, 2H), 1,92 (m, 1H), 6,53 (dd, J=1,6, 10, 1H), 7,17 (d, J=10, 1H), 7,32 (d, J=7, 1H), 7,48 (d, J=8,4, 1H), 7,64 (t, J=8,2, 1H), 8,34 (sa, 2H), 8,60 (sa, 3H), 11,64 (s, 1H), 12,10 (s, 1H).

APCIMS 337 [M+1]⁺.

EJEMPLO 6

Identificación de la [5-ciclopropil-1-(2-quinolon-5-il)-1H-pirazol-4-carbonil]guanidina en muestras de plasma humano mediante cromatografía líquida (LC)/espectroscopia de masas

(MS)/MS y LC/RMN

Se dosificaron sujetos humanos por vía intravenosa con el monohidrocloreto de [5-ciclopropil-1-(quinolin-5-il)-1H-pirazol-4-carbonil]guanidina monohidratado. Las muestras de plasma humano se reunieron y se precipitaron las proteínas mediante un volumen doble de acetonitrilo. Después de una centrifugación, el sobrenadante se recogió en un baño de agua con N₂ a 40°C.

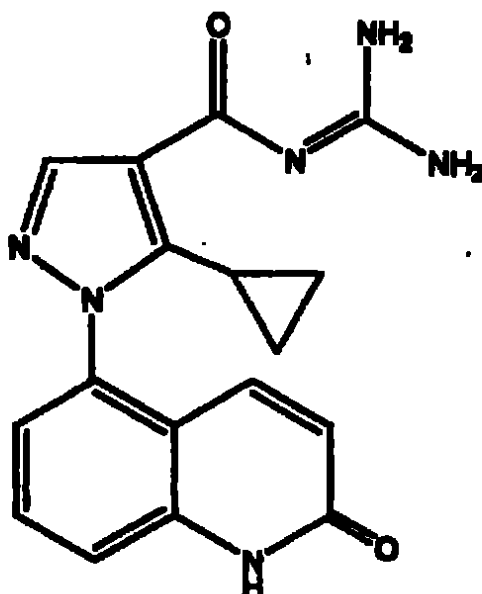
Se inyectó una parte alícuota (100 µl o 50 µl) de la muestra concentrada sobre un instrumento LC/MS/MS equipado con una columna Zorbax Rx-C8 4,6 x 150 mm, se analizó en un espectrómetro de masas PE Sciex API 2000 o Finnigan LCQ, y se controló mediante un detector de UV a 254 nm. El eluyente de la columna se dividió, de forma que 5% del eluyente se desvió al espectrómetro de masas y el resto se pasó al detector de UV. Los análisis se llevaron a cabo utilizando un caudal de la fase móvil de 1 ml/minuto, y la fase móvil consistía en formiato de amonio 5 mM (pH 3,0) como disolvente A y acetonitrilo como disolvente B. Un gradiente incluía 5/95 a 40/60 de B/A durante un periodo de 20 minutos después de una parada inicial de 3 minutos. Bajo estas condiciones de LC se detectó un metabolito con un tiempo de retención de 11,8 minutos (la [5-ciclopropil-1-(quinolin-5-il)-1H-pirazol-4-carbonil]guanidina se detectó a los 13,7 minutos). Las unidades de masa de diferencia entre la [5-ciclopropil-1-(quinolin-5-il)-1H-pirazol-4-carbonil]guanidina (m/z 321) y el metabolito (m/z 337) en el plasma humano sugieren que se forma mediante oxidación. El espectro de ion de LC/MS/MS del metabolito protonado a m/z 337 ([M+H]⁺) muestra fragmentos de iones a m/z 278, 260, 250, 236, 223 y 208.

Las sales se eliminaron de la muestra concentrada anterior mediante extracción de fase sólida. La muestra se concentró para contener aproximadamente 5-10 µg del metabolito. Se inyectaron 50 µl de esta muestra sobre un instrumento LC/RMN equipado con una columna Zorbax Rx-C8 4,6 x 150 mm, se analizaron en un espectrómetro de RMN Bruker 500 MHz, y se controlaron mediante un detector de UV a 235 nm.

Los análisis se llevaron a cabo utilizando un caudal de la fase móvil de 1 ml/minuto, y la fase móvil consistía en ácido fórmico acuoso deuterado 15 mM ajustado a pH 3,3 con hidróxido de amonio deuterado en D₂O como disolvente C, y acetonitrilo-d₃ como disolvente D. Un gradiente incluía 5/95 a 20/80 de D/C durante un periodo de 17 minutos después de una parada inicial de 3 minutos. El metabolito deseado se capturó en la sonda de RMN utilizando la técnica de detención de flujo en el pico a 13,6 minutos. Los espectros de RMN de protón y los espectros COSY del metabolito humano contenían dos dobletes (6,64 y 7,41 ppm) se estaban acoplados entre sí, pero no a otros picos. La ausencia del pico campo abajo a 8,92 ppm, que está presente en la [5-ciclopropil-1-(quinolin-5-il)-1H-pirazol-4-carbonil]guanidina, sugiere que la posición 2 del anillo de la quinoleína es el sitio de oxidación. Basándose en estos datos, se determinó la estructura del metabolito como [5-ciclopropil-1-(2-quinolon-5-il)-1H-pirazol-4-carbonil]guanidina. La comparación del espectro de LC/RMN de ¹H del metabolito con el de un patrón sintético de hidrocloreuro de [5-ciclopropil-1-(2-quinolon-5-il)-1H-pirazol-4-carbonil]guanidina, preparado como se describe en el ejemplo 5, confirmó la determinación estructural.

REIVINDICACIONES

1.- Un compuesto que tiene la fórmula I



fórmula I

5 su profármaco, o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o de dicho profármaco, con la condición de que la [5-ciclopropil-1-(quinolin-5-il)-1H-pirazol-4-carbonil]guanidina no se incluye.

2.- La [5-ciclopropil-1-(2-quinolon-5-il)-1H-pirazol-4-carbonil]guanidina, o su sal farmacéuticamente aceptable.

10 3.- Un método para reducir las lesiones tisulares resultantes de la isquemia o la hipoxia, que comprende administrar a un mamífero que necesite dicho tratamiento una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la reivindicación 1, su profármaco, o una sal farmacéuticamente
15 aceptable de dicho compuesto o de dicho profármaco.

4.- Un método según la reivindicación 3, en el cual el tejido es tejido cardíaco, cerebral, hepático, renal, pulmonar, del intestino, del músculo esquelético, del bazo, pancreático, nervioso, de la médula espinal, retiniano, de la
20 vasculatura o intestinal.

5.- Un método según la reivindicación 3, en el cual la cantidad del compuesto de la reivindicación 1, su profármaco, o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o de dicho profármaco es desde aproximadamente 0,01 mg/kg/día a

95

107

aproximadamente 50 mg/kg/día.

6.- Un método según la reivindicación 5, en el cual el mamífero es una mujer o un hombre.

7.- Un método según la reivindicación 6, en el cual
5 dicho tejido es tejido cardíaco.

8.- Un método según la reivindicación 6, en el cual dicho tejido es tejido cerebral.

9.- Un método según la reivindicación 6, en el cual dicho tejido es tejido hepático.

10 10.- Un método según la reivindicación 6, en el cual dicho tejido es tejido renal.

11.- Un método según la reivindicación 6, en el cual dicho tejido es tejido pulmonar.

12.- Un método según la reivindicación 6, en el cual
15 dicho tejido es tejido intestinal.

13.- Un método según la reivindicación 6, en el cual dicho tejido es tejido del músculo esquelético.

14.- Un método según la reivindicación 6, en el cual dicho tejido es tejido del bazo.

20 15.- Un método según la reivindicación 6, en el cual dicho tejido es tejido pancreático.

16.- Un método según la reivindicación 6, en el cual dicho tejido es tejido retiniano.

17.- Un método según la reivindicación 6, en el cual el
25 compuesto se administra de modo profiláctico.

18.- Un método según la reivindicación 6, en el cual el compuesto se administra antes de la cirugía.

19.- Un método según la reivindicación 6, en el cual el
compuesto se administra antes de la cirugía cardíaca.

30 20.- Un método según la reivindicación 6, en el cual el compuesto se administra durante la cirugía.

21.- Un método según la reivindicación 6, en el cual el compuesto se administra durante la cirugía cardíaca.

22.- Un método según la reivindicación 6, en el cual el
35 compuesto se administra en las veinticuatro horas siguientes a la cirugía.

23.- Un método según la reivindicación 6, en el cual el

compuesto se administra en las veinticuatro horas siguientes a la cirugía cardíaca.

24.- Un método según la reivindicación 6, en el cual las lesiones tisulares resultantes de la isquemia son lesiones isquémicas y se producen durante el transplante de órganos.

25.- Un método según la reivindicación 6, en el cual el compuesto se administra para prevenir las lesiones isquémicas miocárdicas perioperativas.

26.- Una composición farmacéutica que comprende una cantidad del compuesto de la reivindicación 1, su profármaco, o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o de dicho profármaco, y un portador, vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptables.

27.- Una composición farmacéutica para la reducción de las lesiones tisulares resultantes de la isquemia o la hipoxia, que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de la reivindicación 1, su profármaco, o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o de dicho profármaco, y un portador, vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptables.

28.- Un método según la reivindicación 6, en el cual el compuesto se administra antes, durante y después de la cirugía.

29.- Un método según la reivindicación 6, en el cual el compuesto se administra antes, durante y después de la cirugía cardíaca.

30.- Un método para producir la [5-ciclopropil-1-(2-quinolon-5-il)-1H-pirazol-4-carbonil]guanidina, mediante la administración de [5-ciclopropil-1-(quinolin-5-il)-1H-pirazol-4-carbonil]guanidina a un ser humano.

31.- La [5-ciclopropil-1-(2-quinolon-5-il)-1H-pirazol-4-carbonil]guanidina sustancialmente pura, o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto.

97

RESUMEN

Un inhibidor de NHE-1, métodos para utilizar el inhibidor de NHE-1 y composiciones farmacéuticas que contienen el inhibidor de NHE-1. El inhibidor de NHE-1 es
5 útil para la reducción de las lesiones tisulares resultantes de la isquemia de los tejidos.

Nota: los folios 107 y 108 son tarjetas.

 07-05-01

REQUISITOS MINIMOS PARA ADMISION A TRAMITE

98

PATENTE DE INVENCION []

MODELO DE UTILIDAD []

- Indicación de que se solicita la concesión de una patente []
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud []
- Descripción de la invención []
- Dibujos de ser estos pertinentes []
- Comprobante de Pago de las tasas establecidas []

COMPLETA []

INCOMPLETA []

DISEÑO INDUSTRIAL []

- Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial []
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud. []
- Representación gráfica y fotográfica del Diseño Industrial o muestra del material que incorpora el diseño. []
- Comprobante de pago de las tasas establecidas. []

COMPLETA []

INCOMPLETA []

ESQUEMA DE TRAZADO []

- Indicación de que se solicita el registro de un Esquema de trazado. []
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud. []
- Representación gráfica del esquema de trazado []
- Comprobante de pago de las tasas establecidas. []

COMPLETA []

INCOMPLETA []


Firma Responsable

Fecha:

Carrera 13 No. 27-00 Piso 5 y 10
Conmutador: 334 12 21-2-3-4
Fax: 281 31 25 e-mail: info@ic.gov.co
Santa Fe de Bogotá D.C. - Colombia

197 99

2020
Bogotá DC

Doctor
CARLOS R. OLARTE
Apoderado

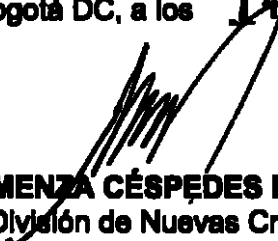
REFERENCIA:	Radicación No.	01-32977
	Trámite	002
	Evento	001
	Actuación	416
	Oficio No.	1895
	Folios	001

Teniendo en cuenta que la solicitud de privilegio de patente que se tramita bajo el expediente indicado en la referencia, reúne los requisitos de forma establecidos en los artículos 26 y 27 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, y en las demás disposiciones vigentes sobre la materia, se envía el extracto de la solicitud a la Oficina de Comunicaciones para efecto de su publicación en la Gaceta de Propiedad Industrial, conforme lo establece el artículo 40 de la misma Decisión.

Siendo manifestación expresa del interesado, la solicitud no será publicada antes de los 18 meses contados a partir de la fecha de presentación de la solicitud, esto es a partir del día 27 de octubre del 2002.

Cúmplase

Dado en Bogotá DC, a los **14 JUN. 2001**


ALIX CARMONA CÉSPEDES DE VERGEL
Jefe de la División de Nuevas Creaciones

Bogotá, DC, El extracto de esta solicitud fue publicado en el número **522**
de la Gaceta de Propiedad Industrial, de fecha _____. El término hábil señalado por la
ley expiró el ____ y SI ____ NO ____ se presentaron oposiciones por parte de terceros.

Carrera 13 No. 27-00 Pisos 5, 7 y 10
Conmutador: 382 0840
Fax: 382 2695
E-mail: Info@sic.gov.co
Bogotá, D.C., Colombia