

254

Señor

SUPERINTENDENTE DE INDUSTRIA Y CC
DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
Rad: 08-031620- -00002-0000
Fec: 2008-08-19 17:23:37 Dep. 2020 NUECREACIONES
Tm. 11 PATENTEYI
Evo: 370 FASENACIONALI
Act 329 CTOINFORMACION Folios: 222

E. S. D.

Re: P1.ARENA PHARMACEUTICALS, INC Y MERCK & CO.,
INC.-Solicitud de Patente de Invención en Fase Nacional
PCT para "DERIVADOS DE TETRAZOL Y METODOS
PARA EL TRATAMIENTO CON LOS MISMOS DE
TRASTORNOS RELACIONADOS CON EL
METABOLISMO".-Clase C07D 403/04.-Expediente
número 06-031.620.-

1. Me refiero a mi memorial de 27 de Junlo de 2006.
2. Atentamente me permito presentar a ese Despacho copia simple de la correspondiente patente Europea No. 1599469 concedida el 11 de Mayo de 2006, para la invención denominada "DERIVADOS DE TETRAZOL Y METODOS PARA EL TRATAMIENTO DE TRASTORNOS METABOLICOS RELACIONADOS DEL MISMO" junto con su respectiva traducción.
3. Ruego a usted tomar atenta nota de lo anterior y proceder de conformidad.

Señor Superintendente,


ALICIA LLOREDA RICAURTE
T.P. 53.215



Europäisches Patentamt

**European
Patent Office**

Office européen
des brevets

Generalization 2

Directorate General 2

Direction Générale 2

**Wytenburg, Wilhelmus Johannes
Mawburn Ellis LLP
York House
23 Kingsway
London WC2B 8HP
GRANDE BRETAGNE**

**Formal Use Officer**

Name: _____

Total:

Order

11.05.06

Reference
WJW/FP6320550

Application No./Patent No.
04818324.8 - 2117 / 1599468

Applicant/Proprietor
Arena Pharmaceuticals, Inc., et al

Decision to grant a European patent pursuant to article 97(2) EPC

Following examination of European patent application No. 04818324.8 a European patent with the title and the supporting documents indicated in the communication pursuant to Rule 51(4) EPC dated 14.02.06 is hereby granted in respect of the designated Contracting States.

Patent No. : 1599469
Date of filing : 29.10.04
Priority claimed : 31.10.03/US 516238

Designated Contracting States
and Proprietor(s)

: AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR HU IE IT LI LU MC NL
PL PT RO SE SI SK TR
Arena Pharmaceuticals, Inc.
6166 Nancy Ridge Drive
San Diego, CA 92121/US

AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR HU IE IT LI LU MC NL
PL PT RO SE SI SK TR
Merok & Co., Inc.
126 East Lincoln Avenue
Rahway, New Jersey 07065/US

This decision will take effect on the date on which the European Patent Bulletin mentions the grant (Art. 97(4) and (5) EPC).

The mention of the grant will be published in European Patent Bulletin 05/23 of 07.05.08.

Examining Division

Gott |

Mortgagi J**Herz C**

Registered Letter
EPO Form 2008A 07.08 05.05.08

to EPO postal service: 05.05.08

ANMERKUNG ZUR ENTSCHEIDUNG ÜBER DIE ERTEILUNG
EINES EUROPÄISCHEN PATENTS (EPA Form 2006)

256

Informationenabroschüre "Nationales Recht zum EPÜ"
Diese Broschüre enthält nützliche Informationen zu den formalen Erfordernissen und den Handlungen, die von den Patentbehörden der Vertragsstaaten vorzunehmen sind, um Rechte in diesen Staaten zu erlangen. Diese Handlungen einem ständigen Wandel unterworfen sind, sollte immer nur die neueste Ausgabe der Broschüre benutzt werden. Nachträgliche Informationen werden im Amtsblatt veröffentlicht.

Übersetzung der europäischen Patentschrift nach Artikel 65(1) des Europäischen Patentübereinkommens
Sie werden erneut darauf hingewiesen, dass bestimmte Vertragsstaaten nach Artikel 65(1) EPÜ eine Übersetzung der europäischen Patentschrift verlangen; hierauf wird in der Mitteilung gemäß Regel 51(8) vorgetragen. Die Nichteinreichung dieser Übersetzung kann zur Folge haben, dass das Patent in dem betreffenden Staat/in den betreffenden Staaten als von Anfang an nicht eingetreten gilt. Weitere Einzelheiten entnehmen Sie bitte der oben genannten Broschüre.

Zahlung von Jahresgebühren für europäische Patente
Nach Artikel 141 EPU können "nationale" Jahresgebühren für das europäische Patent für die Jahre erhoben werden, die an das Jahr anschließen, in dem der Hinweis auf die Erteilung des europäischen Patents im Europäischen Patentblatt bekanntgemacht wird. Weitere Einzelheiten entnehmen Sie bitte der oben genannten Broschüre.

NOTE RELATING TO THE DECISION TO GRANT A
EUROPEAN PATENT (EPO Form 2008)

EPO Information Brochure "National law relating to the EPC"
This brochure provides useful information regarding formal requirements and the steps to be taken before the patent authorities of the Contracting States in order to acquire rights in those states. Since the necessary steps are subject to change the latest edition of the brochure should always be used. Subsequent information is published in the Official Journal.

Translation of the European patent specification under Article 65(1) of the European Patent Convention
Your attention is again drawn to the requirements regarding translation of the European patent specification laid down by a number of Contracting States under Article 65(1) EPC, to which reference is made in the communication under Rule 51(8). Failure to supply such translation(s) may result in the patent being deemed to be void "ab initio" in the State(s) in question. For further details you are recommended to consult the above-mentioned brochure.

Payment of renewal fees for European patents
Under Article 141 EPC "national" renewal fees in respect of a European patent may be imposed for the years which follow that in which the mention of the grant of the European patent is published in the "European Patent Bulletin". For further details you are recommended to consult the above-mentioned brochure.

REMARQUE RELATIVE A LA DECISION DE DELIVRANCE
D'UN BREVET EUROPEEN (OEB Form 2008)

- Brochure d'information de l'OEB "Droit national relatif à la CBE"**
Cette brochure fournit d'utiles renseignements sur les conditions de forme requises et sur les actes à accomplir auprès des offices de brevet des Etats contractants aux fins d'obtenir des droits dans les Etats contractants. Etant donné que les actes indispensables sont susceptibles de modifications, il serait bon de toujours consulter la dernière édition de la brochure. Toute information ultérieure est publiée au Journal Officiel.
- Traduction du fascicule du brevet européen en vertu de l'article 65(1) de la Convention sur le brevet européen**
Votre attention est de nouveau attirée sur l'obligation faite par certains Etats contractants, en vertu de l'article 65(1) CBE, de fournir une traduction du fascicule du brevet européen, à laquelle il est fait référence dans la notification établie conformément à la règle 51(8). Si la(les) traduction(s) n'est(ne sont) pas fournie(s), le brevet européen peut, dès l'origine, être réputé sans effet dans cet(ces) Etat(s). Pour plus de détails, nous vous renvoyons à la brochure susmentionnée.
- Paiement des taxes annuelles pour le brevet européen**
Conformément à l'article 141 CBE, les taxes annuelles "nationales" dues au titre du brevet européen peuvent être perçues pour les années suivant celle au cours de laquelle la mention de la délivrance du brevet européen est publiée au "Bulletin européen des brevets". Pour plus de détails, nous vous renvoyons à la brochure susmentionnée.

(19)



Europäisches Patentamt
European Patent Office
Office européen des brevets



(11)

EP 1 599 469 B1

(12)

EUROPEAN PATENT SPECIFICATION

(45) Date of publication and mention
of the grant of the patent:
07.06.2006 Bulletin 2006/23

(51) Int Cl:
C07D 403/04 (2006.01) C07D 495/04 (2006.01)
C07D 481/04 (2006.01) A61K 31/41 (2006.01)

(21) Application number: 04818324.8

(86) International application number:
PCT/US2004/035927

(22) Date of filing: 29.10.2004

(87) International publication number:
WO 2005/044816 (19.05.2005 Gazette 2005/20)

(54) TETRAZOLE DERIVATIVES AND METHODS OF TREATMENT OF METABOLIC-RELATED
DISORDERS THEREOF

TETRAZOLDERIVATE UND VERFAHREN ZUR BEHANDLUNG VON
STOFFWECHSELBEDINGTEN ERKRANKUNGEN DAMIT

DERIVES DE TETRAZOLE ET METHODES DE TRAITEMENT DE TROUBLES LIES AU
METABOLISME

(84) Designated Contracting States:
AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR
HU IE IT LI LU MC NL PL PT RO SE SI SK TR
Designated Extension States:
AL HR LT LV MK

(30) Priority: 31.10.2003 US 516238 P

(43) Date of publication of application:
30.11.2005 Bulletin 2005/48

(80) Divisional application:
08005248.7

(73) Proprietors:
• Arena Pharmaceuticals, Inc.
San Diego, CA 92121 (US)
• Merck & Co., Inc.
Rahway, New Jersey 07065 (US)

(72) Inventors:
• SEMPLE, Graeme
San Diego, CA 92127 (US)
• SCHRADER, Thomas
San Diego, CA 92122 (US)
• SKINNER, Philip, J.
San Diego, CA 92107 (US)
• COLLETTI, Steven, L.
Princeton Junction, NJ 08550 (US)
• GHARBAOUI, Tawfik
Escondido, CA 92029 (US)
• IMBRIGLIO, Jason E.
Piscataway, NJ 08854 (US)

• JUNG, Jee-Kyu
San Diego, CA 92127 (US)
• LIANG, Rui
East Brunswick, NJ 08816 (US)
• RAGHAVAN, Subhalekha
Teaneck, NJ 07686 (US)
• SCHMIDT, Darby
Clark, NJ 07066 (US)
• TATA, James, R.
Westfield, NJ 07090 (US)

(74) Representative: Wytenburg, Wilhelmus Johannes
et al
Mawburn Ellis LLP
York House
23 Kingsway
London WC2B 6HP (GB)

(56) References cited:
EP-A- 0 529 854 WO-A-20/04032928

• BAYS H ET AL: "PHARMACOTHERAPY FOR
DYSLIPIDAEMIA - CURRENT THERAPIES AND
FUTURE AGENTS" EXPERT OPINION ON
PHARMACOTHERAPY, ASHLEY, LONDON,, GB,
vol. 4, no. 11, 2003, pages 1901-1938,
XP008027524 ISSN: 1465-8566

Remarks:

The file contains technical information submitted after
the application was filed and not included in this
specification

Note: Within nine months from the publication of the mention of the grant of the European patent, any person may give
notice to the European Patent Office of opposition to the European patent granted. Notice of opposition shall be filed in
a written reasoned statement. It shall not be deemed to have been filed until the opposition fee has been paid. (Art.
99(1) European Patent Convention).

EP 1 599 469 B1

Description

FIELD OF THE INVENTION

5 [0001] The present invention relates to certain tetrazole derivatives, and pharmaceutically acceptable salts thereof, which exhibit useful pharmacological properties, for example as agonists for the nicotinic acid receptor, RUP25. The present invention also relates to pharmaceutical compositions containing one or more compounds of the invention, and methods of using the compounds and compositions of the invention in the treatment of metabolic-related disorders, including dyslipidemia, atherosclerosis, coronary heart disease, insulin resistance, type 2 diabetes, Syndrome-X and the like. The present invention also relates to the use of the compounds of the invention in combination with other active agents such as those belonging to the class of α -glucosidase inhibitors, aldose reductase inhibitors, biguanides, HMG-CoA reductase inhibitors, squalene synthesis inhibitors, fibrates, LDL catabolism enhancers, angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitors, insulin secretion enhancers, thiazolidinedione and the like.

15 BACKGROUND OF THE INVENTION

Compounds of the invention as Antilipolytic Agents

20 [0002] Atherosclerosis and stroke are the numbers one and number three leading causes of death of both men and women in the United States. Type 2 diabetes is a public health problem that is serious, widespread and increasing. Elevated levels of low density lipoprotein (LDL) cholesterol or low levels of high density lipoprotein (HDL) cholesterol are, independently, risk factors for atherosclerosis and associated cardiovascular pathologies. In addition, high levels of plasma free fatty acids are associated with insulin resistance and type 2 diabetes. One strategy for decreasing LDL-cholesterol, increasing HDL-cholesterol, and decreasing plasma free fatty acids is to inhibit lipolysis in adipose tissue. This approach involves regulation of hormone sensitive lipase, which is the rate-limiting enzyme in lipolysis. Lipolytic agents increase cellular levels of cAMP, which leads to activation of hormone sensitive lipase within adipocytes. Agents that lower intracellular cAMP levels, by contrast, would be antilipolytic.

25 [0003] It is also worth noting in passing that an increase in cellular levels of cAMP down-regulates the secretion of adiponectin from adipocytes [Delporte, ML et al. *Biochem J* (2002) July]. Reduced levels of plasma adiponectin have been associated with metabolic-related disorders, including atherosclerosis, coronary heart disease, insulin resistance and type 2 diabetes [Matsuda, M et al. *J Biol Chem* (2002) July and reviewed therein].

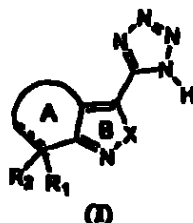
30 [0004] Nicotinic acid (niacin, pyridine-3-carboxylic acid) is a water-soluble vitamin required by the human body for health, growth and reproduction; a part of the Vitamin B complex. Nicotinic acid is also one of the oldest used drugs for the treatment of dyslipidemia. It is a valuable drug in that it favorably affects virtually all of the lipid parameters listed above [Goodman and Gilman's *Pharmacological Basis of Therapeutics*, editors Harmon JG and Limbird LE, Chapter 38, Mahley RW and Bersot TP (2001) pages 971-1002]. The benefits of nicotinic acid in the treatment or prevention of atherosclerotic cardiovascular disease have been documented in six major clinical trials [Guyton JR (1998) *Am J Cardiol* 82:18U-23U]. Nicotinic acid and related derivatives, such as, acipimox have recently been discussed [Lorenzen, A et al (2001) *Molecular Pharmacology* 59:349-357]. Structure and synthesis of additional analogs or derivatives of nicotinic acid are discussed throughout the Merck Index, An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals, Tenth Edition (1983), which is incorporated herein by reference in its entirety.

35 [0005] Nicotinic acid inhibits the production and release of free fatty acids from adipose tissue, likely via an inhibition of adenylyl cyclase, a decrease in intracellular cAMP levels, and a concomitant decrease in hormone sensitive lipase activity. Agonists that down-regulate hormone sensitive lipase activity leading to a decrease in plasma free fatty acid levels are likely to have therapeutic value. The consequence of decreasing plasma free fatty acids is two-fold. First, it will ultimately lower LDL-cholesterol and raise HDL-cholesterol levels, independent risk factors, thereby reducing the risk of mortality due to cardiovascular incidence subsequent to atheroma formation. Second, it will provide an increase in insulin sensitivity in individuals with insulin resistance or type 2 diabetes. Unfortunately, the use of nicotinic acid as a therapeutic is partially limited by a number of associated, adverse side-effects. These include flushing, free fatty acid rebound, and liver toxicity.

40 [0006] The rational development of novel, nicotinic acid receptor agonists that have fewer side-effects will be valuable, but to date this has been hindered by the inability to molecularly identify the nicotinic acid receptor. Furthermore, other receptors of the same class may exist on the surface of adipocytes and similarly decrease hormone sensitive lipase activity through a reduction in the level of intracellular cAMP but without the elicitation of adverse effects such as flushing, thereby representing promising novel therapeutic targets. Recent work suggests that nicotinic acid probably acts through a specific GPCR [Lorenzen A, et al. (2001) *Molecular Pharmacology* 59:349-357 and reviewed therein]. Further work has suggested that the effects of nicotinic acid on macrophages, spleen and probably adipocytes are mediated via this specific G PCR [Lorenzen A, et al. (2002) *Biochemical Pharmacology* 64:845-848 and reviewed therein].

SUMMARY OF THE INVENTION

[0007] One aspect of the present invention encompasses tetrazole derivatives as shown in Formula (I):



15 wherein:

X is NH or O;

R₁ is selected from the group consisting of H, halogen, hydroxy, thioxy, cyano, nitro, C₁₋₄ haloalkyl, amino, C₁₋₄ alkylamino, C₂₋₈ dialkylamino, C₁₋₄ alkyl, C₁₋₄ alkoxy, C₂₋₄ alkenyl, C₂₋₄ alkynyl, C₃₋₈ cycloalkyl, C₁₋₄ haloalkoxy, C₁₋₄ alkylthio, C₁₋₄ alkylsulfanyl, C₁₋₄ alkylsulfonyl, C₁₋₄ haloalkylthio, C₁₋₄ haloalkylsulfanyl and C₁₋₄ haloalkylsulfonyl; R₂ is selected from the group consisting of H, halogen, hydroxy, thioxy, cyano, nitro, C₁₋₄ haloalkyl, amino, C₁₋₄ alkylamino, C₂₋₈ dialkylamino, C₁₋₄ alkyl, C₁₋₄ alkoxy, C₂₋₄ alkenyl, C₂₋₄ alkynyl, C₃₋₈ cycloalkyl, C₁₋₄ haloalkoxy, C₁₋₄ alkylthio, C₁₋₄ alkylsulfanyl, C₁₋₄ alkylsulfonyl, C₁₋₄ haloalkylthio, C₁₋₄ haloalkylsulfanyl and C₁₋₄ haloalkylsulfonyl; or R₂ is absent;

— is a single bond when R₂ is present, or — is a double bond when R₂ is absent; and

Ring A is a 5- membered carbocyclic ring or a 5- membered heterocyclic ring optionally substituted with 1 to 4 substituents selected from the group consisting of halogen, hydroxy, thioxy, cyano, nitro, C₁₋₄ haloalkyl, amino, C₁₋₄ alkylamino, C₂₋₈ dialkylamino, C₁₋₄ alkyl, C₁₋₄ alkoxy, C₂₋₄ alkenyl, C₂₋₄ alkynyl, C₃₋₈ cycloalkyl, C₁₋₄ haloalkoxy, C₁₋₄ alkylthio, C₁₋₄ alkylsulfanyl, C₁₋₄ alkylsulfonyl, C₁₋₄ haloalkylthio, C₁₋₄ haloalkylsulfanyl and C₁₋₄ haloalkylsulfonyl; or

a pharmaceutically acceptable salt, solvate or hydrate thereof

[0008] One aspect of the present invention encompasses pharmaceutical compositions comprising at least one compound according to Formula (I), as described herein.

[0009] In some embodiments, the pharmaceutical composition further comprises one or more agents selected from the group consisting of α -glucosidase inhibitor, aldose reductase inhibitor, biguanide, HMG-CoA reductase inhibitor, squalene synthase inhibitor, fibrate, LDL catabolism enhancer, angiotensin converting enzyme inhibitor, insulin secretion enhancer and thiazolidinedione.

[0010] Also described herein are methods of treatment of a metabolic-related disorder comprising administering to an individual in need of such treatment a therapeutically-effective amount of a compound according to Formula (I), as described herein, or a pharmaceutical composition thereof.

[0011] Also described herein are methods of modulating a RUP25 receptor comprising contacting the receptor with a compound according to Formula (I), as described herein.

[0012] Also described herein are methods of modulating a RUP25 receptor for the treatment of a metabolic-related disorder in an individual in need of such modulation comprising contacting said receptor with a therapeutically-effective amount of a compound according to Formula (I), as described herein.

[0013] Also described herein are methods of raising HDL in an individual comprising administering to the individual a therapeutically-effective amount of a compound according to Formula (I), as described herein.

[0014] One aspect of the present invention pertains to a compound of Formula (I), as described herein, for use in a method of treatment of the human or animal body by therapy.

[0015] One aspect of the present invention pertains to a compound of Formula (I), as described herein, for use in a method of treatment of a metabolic-related disorder of the human or animal body by therapy.

[0016] One aspect of the present invention pertains to the use of compounds of Formula (I), as described herein, for the manufacture of a medicament for use in the treatment of a metabolic-related disorder.

[0017] In some embodiments of the present invention, the metabolic-related disorder is of the group consisting of dyslipidemia, atherosclerosis, coronary heart disease, insulin resistance, obesity, impaired glucose tolerance, atheromatous disease, hypertension, stroke, Syndrome X, heart disease and type 2 diabetes. In some embodiments the metabolic-related disorder is dyslipidemia, atherosclerosis, coronary heart disease, insulin resistance and type 2 diabetes.

260

tes. In some embodiments the metabolic-related disorder is dyslipidemia. In some embodiments the metabolic-related disorder is atherosclerosis. In some embodiments the metabolic-related disorder is coronary heart disease. In some embodiments the metabolic-related disorder is insulin resistance. In some embodiments the metabolic-related disorder is type 2 diabetes.

[0018] One aspect of the present invention encompasses a method of producing a pharmaceutical composition comprising admixing at least one compound according to Formula (I), as described herein, and a pharmaceutically acceptable carrier or excipient.

[0019] These and other aspects of the invention disclosed herein will be set forth in greater detail as the patent disclosure proceeds.

DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

[0020] The scientific literature has adopted a number of terms, for consistency and clarity, the following definitions will be used throughout this patent document.

[0021] **AGONISTS** shall mean moieties that interact and activate the receptor, such as the RUP25 receptor and initiates a physiological or pharmacological response characteristic of that receptor. For example, when moieties activate the intracellular response upon binding to the receptor, or enhance GTP binding to membranes.

[0022] **AMINO ACID ABBREVIATIONS** used herein are set out in TABLE 1:

TABLE 1		
ALANINE	ALA	A
ARGININE	ARG	R
ASPARAGTNE	ASN	N
ASPARTIC ACID	ASP	D
CYSTEINE	CYS	C
GLUTAMIC ACID	GLU	E
GLUTAMINE	GLN	Q
GLYCINE	GLY	G
HISTIDINE	HIS	H
ISOLEUCINE	ILE	I
LEUCINE	LEU	L
LYSINE	LYS	K
METHIONINE	MET	M
PHENYLALANINE	PHE	F
PROLINE	PRO	P
SERINE	SER	S
THREONINE	THR	T
TRYPTOPHAN	TRP	W
TYROSINE	TYR	Y
VALINE	VAL	V

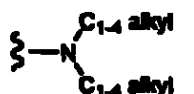
[0023] The term **ANTAGONISTS** is intended to mean moieties that competitively bind to the receptor at the same site as agonists (for example, the endogenous ligand), but which do not activate the intracellular response initiated by the active form of the receptor, and can thereby inhibit the intracellular responses by agonists or partial agonists. Antagonists do not diminish the baseline intracellular response in the absence of an agonist or partial agonist.

[0024] **ATHEROSCLEROSIS** is intended herein to encompass disorders of large and medium-sized arteries that result in the progressive accumulation within the intima of smooth muscle cells and lipids.

CHEMICAL GROUP, MOIETY OR RADICAL:

- [0025] The term "C₁₋₄ acyl" denotes a C₁₋₄ alkyl radical attached to a carbonyl wherein the definition of alkyl has the same definition as described herein; some examples include but not limited to, acetyl, propionyl, n-butanoyl, iso-butanoyl, sec-butanoyl, t-butanoyl (i.e., pivaloyl), pentanoyl and the like.
- [0026] The term "C₁₋₄ acyloxy" denotes an acyl radical attached to an oxygen atom wherein acyl has the same definition as described herein; some examples include but not limited to acetyloxy, propionyloxy, butanoyloxy, iso-butanoyloxy, sec-butanoyloxy, t-butanoyloxy and the like.
- [0027] The term "C₂₋₄ alkenyl" denotes a radical containing 2 to 4 carbons wherein at least one carbon-carbon double bond is present, some embodiments are 2 to 3 carbons, and some embodiments have 2 carbons. Both *E* and *Z* isomers are embraced by the term "alkenyl." Furthermore, the term "alkenyl" includes di-enes. Accordingly, if more than one double bond is present, then the bonds may be all *E* or *Z* or a mixture of *E* and *Z*. Examples of an alkenyl include vinyl, propenyl, allyl, isopropenyl, 2-methyl-propenyl, methyl-propenyl, but-1-enyl, but-2-enyl, but-3-enyl, buta-1,3-dienyl, and the like.
- [0028] The term "C₁₋₄ alkoxy" denotes an alkyl radical, as defined herein, attached directly to an oxygen atom. Examples include methoxy, ethoxy, n-propoxy, iso-propoxy, n-butoxy, t-butoxy, iso-butoxy, sec-butoxy and the like.
- [0029] The term "C₁₋₄ alkyl" denotes a straight or branched carbon radical containing the number of carbons as indicated, for examples; in some embodiments, alkyl is a "C₁₋₄ alkyl" and the group contains 1 to 4 carbons. In some embodiments alkyl contains 1 to 13 carbons, some embodiments contain 1 to 2 carbons, some embodiments contain 1 carbon. Examples of an alkyl include, but not limited to, methyl, ethyl, n-propyl, isopropyl, n-butyl, iso-butyl, t-butyl, sec-butyl, and the like.
- [0030] The term "C₁₋₄ alkylsulfinyl" denotes a C₁₋₄ alkyl radical attached to a sulfoxide radical of the formula: -S(O)- wherein the alkyl radical has the same definition as described herein. Examples include, but not limited to, methylsulfinyl, ethylsulfinyl, n-propylsulfinyl, iso-propylsulfinyl, n-butylsulfinyl, sec-butylsulfinyl, iso-butylsulfinyl, t-butyl, and the like.
- [0031] The term "C₁₋₄ alkylsulfonyl" denotes a C₁₋₄ alkyl radical attached to a sulfone radical of the formula: -S(O)₂- wherein the alkyl radical has the same definition as described herein. Examples include, but not limited to, methylsulfonyl, ethylsulfonyl, n-propylsulfonyl, iso-propylsulfonyl, n-butylsulfonyl, sec-butylsulfonyl, iso-butylsulfonyl, t-butylsulfonyl, and the like.
- [0032] The term "C₁₋₄ alkylthio" denotes a C₁₋₄ alkyl radical attached to a sulfide group of the formula: -S- wherein the alkyl radical has the same definition as described herein. Examples include, but not limited to, methylsulfanyl (i.e., CH₃S-), ethylsulfanyl, n-propylsulfanyl, iso-propylsulfanyl, n-butylsulfanyl, sec-butylsulfanyl, iso-butylsulfanyl, t-butyl, and the like.
- [0033] The term "C₂₋₄ alkynyl" denotes a radical containing 2 to 4 carbons and at least one carbon-carbon triple bond, some embodiments are 2 to 3 carbons, and some embodiments have 2 carbons. Examples of an alkynyl include, but not limited to, ethynyl, prop-1-ynyl, 3-prop-2-ynyl, but-1-ynyl, 1-methyl-prop-2-ynyl, buta-1,3-dynyl, and the like. The term "alkynyl" includes di-yne.
- [0034] The term "amino" denotes the group -NH₂.
- [0035] The term "C₁₋₄ alkylamino" denotes one alkyl radical attached to an amino radical wherein the alkyl radical has the same meaning as described herein. Some examples include, but not limited to, methylamino, ethylamino, n-propylamino, iso-propylamino, n-butylamino, sec-butylamino, iso-butylamino, t-butylamino, and the like. Some embodiments are "C₁₋₃ alkylamino."
- [0036] The term "aryl" denotes an aromatic ring radical containing 6 to 10 ring carbons. Examples include phenyl and naphthyl.
- [0037] The term "carbo-C₁₋₄-alkoxy" denotes a C₁₋₄ alkyl ester of a carboxylic acid, wherein the alkyl group is as defined herein. Examples include, but not limited to, carbomethoxy, carboethoxy, carbopropoxy, carboisopropoxy, carbobutoxy, carbo-sec-butoxy, carbo-iso-butoxy, carbo-t-butoxy, and the like.
- [0038] The term "carboxamide" refers to the group -CONH₂.
- [0039] The term "carboxy" or "carboxyl" denotes the group -CO₂H; also referred to as a carboxylic acid group.
- [0040] The term "cyano" denotes the group -CN.
- [0041] The term "C₃₋₆ cycloalkyl" denotes a saturated ring radical containing 3 to 6 carbons; some embodiments contain 3 to 5 carbons; some embodiments contain 3 to 4 carbons. Examples include, cyclopropyl, cyclobutyl, cyclopentyl, cyclohexyl.
- [0042] The term "C₂₋₆ dialkylamino" denotes an amino substituted with two of the same or different alkyl radicals wherein alkyl radical has the same definition as described herein. A C₂₋₆ dialkylamino may be represented by the following groups:

262



Examples of C₂₋₈ dialkylamino include, but not limited to, dimethylamino, methylethylamino, diethylamino, methylpropylamino, methylisopropylamino, and the like.

[0043] The term "C₁₋₄ haloalkoxy" denotes a haloalkyl, as defined herein, which is directly attached to an oxygen atom. Examples include, but not limited to, difluoromethoxy, trifluoromethoxy, 2,2,2-trifluoroethoxy, pentafluoroethoxy and the like.

[0044] The term "C₁₋₄ haloalkyl" denotes an alkyl group wherein the alkyl is substituted with halogen ranging from one to fully substituted, wherein a fully substituted haloalkyl can be represented by the formula C_nL_{2n+1} wherein L is a halogen and "n" represents the number of carbon atoms; when more than one halogen is present then the halogens may be the same or different and selected from the group consisting of F, Cl, Br and I; it is understood that the terms "alkyl" and "halogen" have the same definition as found herein. In some embodiments, haloalkyl is a "C₁₋₄ haloalkyl" and the group contains 1 to 4 carbons, some embodiments contain 1 to 3 carbons, some embodiments contain 2 to 2 carbons, some embodiments contain 1 carbon. When the haloalkyl is fully substituted with halogen atoms, this group is referred herein as a perhaloalkyl, one example, is an alkyl fully substituted with fluorine atoms and is referred to herein as a "perfluoroalkyl." In some embodiments, examples of a haloalkyl include, but not limited to, difluoromethyl, fluoromethyl, 2,2,2-trifluoro-ethyl, 2,2-difluoro-ethyl, 2-fluoro-ethyl, 1,2,2-trifluoro-ethyl, 1,2-difluoro-ethyl, 1,1-difluoro-ethyl, 1,1,2-trifluoro-ethyl, 3,3,3-trifluoro-propyl, 2,2-difluoro-propyl, 3,3-difluoro-propyl, 3-fluoro-propyl, 2,3,3-trifluoro-propyl, 2,3-Difluoro-propyl, 2,2,3,3,3-pentafluoro-propyl, 2,2,3,3-tetrafluoro-propyl, 2,2,3-trifluoro-propyl, 1,2,3,3-tetrafluoro-propyl, 1,2,3-trifluoro-propyl, 3,3-difluoro-propyl, 1,2,2,3-tetrafluoro-propyl, 4,4-difluoro-butyl, 3,3-difluoro-butyl, 4,4,4-trifluoro-butyl, 3,3-difluoro-butyl, and the like. In some embodiments, examples of a perfluoroalkyl include, but not limited to, trifluoromethyl, pentafluoroethyl, heptafluoropropyl, 1,2,2,2-tetrafluoro-1-trifluoromethyl-ethyl; and the like.

[0045] The term "C₁₋₄ haloalkylsulfinyl" denotes a haloalkyl radical attached to a sulfoxide group of the formula: -S(O)- wherein the haloalkyl radical has the same definition as described herein.

[0046] The term "C₁₋₄ haloalkylsulfonyl" denotes a haloalkyl radical attached to a sulfone group of the formula: -S(O)₂- wherein haloalkyl has the same definition as described herein.

[0047] The term "C₁₋₄ haloalkylthio" denotes a haloalkyl radical directly attached to a sulfur atom wherein the haloalkyl has the same meaning as described herein.

[0048] The term "halogen" or "halo" denotes a fluoro, chloro, bromo or iodo group.

[0049] The term "hydroxyl" denotes the group -OH.

[0050] The term "nitro" denotes the group -NO₂.

[0051] The term "thioxy" denotes the group -SH.

[0052] The acronym DMF denotes dimethylformamide.

[0053] The acronym DMSO denotes dimethylsulfoxide.

[0054] The acronym THF denotes tetrahydrofuran.

[0055] The acronym DCM denotes dichloromethane.

[0056] The acronym Hex denotes hexanes.

[0057] The acronym TBDMS denotes tert-butyldimethylsilyl.

[0058] The acronym PTSA denotes para-toluenesulfonic acid.

[0059] The acronym LDA denotes lithium diisopropylamide.

[0060] The acronym LHMDS denotes lithium hexamethyldisilazane.

[0061] The acronym TFA denotes trifluoroacetic acid.

[0062] The acronym EDC denotes 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide hydrochloride.

[0063] The acronym dppf denotes 1,1'-bis(diphenylphosphino)ferrocene.

[0064] The term CODON shall mean a grouping of three nucleotides (or equivalents to nucleotides) which generally comprise a nucleoside (adenosine (A), guanosine (G), cytidine (C), uridine (U) and thymidine (T)) coupled to a phosphate group and which, when translated, encodes an amino acid.

[0065] The term COMPOSITION shall mean a material comprising at least two compounds or two components; for example, and without limitation, a Pharmaceutical Composition is a Composition comprising a compound of the present invention and a pharmaceutically acceptable carrier.

[0066] The term COMPOUND EFFICACY shall mean a measurement of the ability of a compound to inhibit or stimulate receptor functionality, as opposed to receptor binding affinity.

[0067] The term CONSTITUTIVELY ACTIVATED RECEPTOR shall mean a receptor subject to constitutive receptor activation.

[0068] The term **CONSTITUTIVE RECEPTOR ACTIVATION** shall mean stabilization of a receptor in the active state by means other than binding of the receptor with its endogenous ligand or a chemical equivalent thereof.

[0069] The terms **CONTACT** or **CONTACTING** shall mean bringing the indicated moieties together, whether in an *in vitro* system or an *in vivo* system. Thus, "contacting" a RUP25 receptor with a compound of the invention includes the administration of a compound of the present invention to an individual, for example a human, having a RUP25 receptor, as well as, for example, introducing a compound of the invention into a sample containing a cellular or more purified preparation containing a RUP25 receptor.

[0070] **CORONARY HEART DISEASE** is intended herein to encompass disorders comprising a narrowing of the small blood vessels that supply blood and oxygen to the heart. Coronary heart disease usually results from the build up of fatty material and plaque. As the coronary arteries narrow, the flow of blood to the heart can slow or stop. Coronary heart disease can cause chest pain (stable angina), shortness of breath, heart attack, or other symptoms.

[0071] **DECREASE** is used to refer to a reduction in a measurable quantity and is used synonymously with the terms "reduce", "diminish", "lower", and "lessen".

[0072] **DIABETES** as used herein is intended to encompass the usual diagnosis of **DIABETES** made from any of the methods including, but not limited to, the following list: symptoms of diabetes (e.g., polyuria, polydipsia, polyphagia) plus casual plasma glucose levels of greater than or equal to 200 mg/dl, wherein casual plasma glucose is defined any time of the day regardless of the timing of meal or drink consumption; 8 hour fasting plasma glucose levels of less than or equal to 126 mg/dl; and plasma glucose levels of greater than or equal to 200 mg/dl 2 hours following oral administration of 75 g anhydrous glucose dissolved in water.

[0073] The phrase **DISORDERS OF LIPID METABOLISM** is intended herein to include, but not be limited to, dyslipidemia.

[0074] The term **DYSLIPIDEMIA** is intended herein to encompass disorders comprising any one of elevated level of plasma free fatty acids, elevated level of plasma cholesterol, elevated level of LDL-cholesterol, reduced level of HDL-cholesterol, and elevated level of plasma triglycerides.

[0075] The phrase **IN NEED OF TREATMENT**, as used herein, refers to a judgment made by a caregiver (e.g. physician, nurse, nurse practitioner, etc. in the case of humans; veterinarian in the case of animals, including non-human mammals) that an individual or animal requires or will benefit from treatment. This judgment is made based on a variety of factors that are in the realm of a caregiver's expertise, that includes the knowledge that the individual is ill, or will be ill, as the result of a disease, condition or disorder that is treatable by the compounds of the invention. Further, the phrase "in need of treatment" also refers to the "prophylaxis" of an individual which is the judgment made by the caregiver that the individual will become ill. In this context, the compounds of the invention are used in a protective or preventive manner. Accordingly, "in need of treatment" refers to the judgment of the caregiver that the individual is already ill or will become ill and the compounds of the present invention can be used to alleviate, inhibit, ameliorate or prevent the disease, condition or disorder.

[0076] The term **INDIVIDUAL** as used herein refers to any animal, including mammals, for example, mice, rats, other rodents, rabbits, dogs, cats, swine, cattle, sheep, horses, or primates, and in one embodiment, humans.

[0077] The terms **INHIBIT** or **INHIBITING**, in relationship to the term "response" shall mean that a response is decreased or prevented in the presence of a compound as opposed to in the absence of the compound.

[0078] **INSULIN RESISTANCE** as used herein is intended to encompass the usual diagnosis of insulin resistance made by any of a number of methods, including but not restricted to: the intravenous glucose tolerance test or measurement of the fasting insulin level. It is well known that there is an excellent correlation between the height of the fasting insulin level and the degree of insulin resistance. Therefore, one could use elevated fasting insulin levels as a surrogate marker for insulin resistance for the purpose of identifying which normal glucose tolerance (NGT) individuals have insulin resistance. A diagnosis of insulin resistance can also be made using the euglycemic glucose clamp test.

[0079] The term **INVERSE AGONISTS** shall mean moieties that bind the endogenous form of the receptor or to the constitutively activated form of the receptor, and which inhibit the baseline intracellular response initiated by the active form of the receptor below the normal base level of activity which is observed in the absence of agonists or partial agonists, or decrease GTP binding to membranes. In some embodiments, the baseline intracellular response is inhibited in the presence of the inverse agonist by at least 30%, in other embodiments, by at least 50%, and in still other embodiments, by at least 75%, as compared with the baseline response in the absence of the inverse agonist.

[0080] The term **LIGAND** shall mean an endogenous, naturally occurring molecule specific for an endogenous, naturally occurring receptor.

[0081] The phrase **METABOLIC-RELATED DISORDERS** is intended herein to include, but not be limited to, dyslipidemia, atherosclerosis, coronary heart disease, insulin resistance, obesity, impaired glucose tolerance, atheromatous disease, hypertension, stroke, Syndrome X, heart disease and type 2 diabetes.

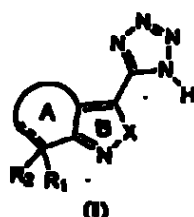
[0082] As used herein, the terms **MODULATE** or **MODULATING** shall mean to refer to an increase or decrease in the amount, quality, response or effect of a particular activity, function or molecule.

[0083] The term **PHARMACEUTICAL COMPOSITION** shall mean a composition for preventing, treating or controlling

[0084] The term **PHARMACEUTICALLY ACCEPTABLE CARRIER** or **EXCIPIENT** shall mean any substantially inert substance used as a diluent or vehicle for a compound of the present invention.

- (1) Preventing the disease; for example, preventing a disease, condition or disorder in an individual that may be predisposed to the disease, condition or disorder but does not yet experience or display the pathology or symptomatology of the disease,
- (2) Inhibiting the disease; for example, inhibiting a disease, condition or disorder in an individual that is experiencing or displaying the pathology or symptomatology of the disease, condition or disorder (i.e., arresting further development of the pathology and/or symptomatology), and
- (3) Ameliorating the disease; for example, ameliorating a disease, condition or disorder in an individual that is experiencing or displaying the pathology or symptomatology of the disease, condition or disorder (i.e., reversing the pathology and/or symptomatology).

[0086] One aspect of the present invention encompasses tetrazole derivatives as shown in Formula (I):

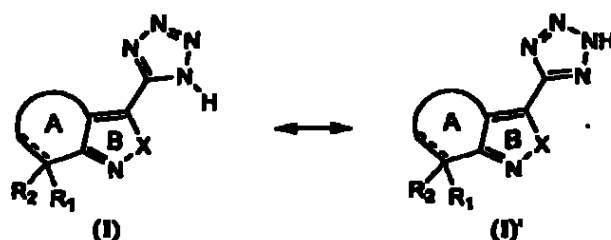


R_1 is selected from the group consisting of H, halogen, hydroxy, thioxy, cyano, nitro, C_{1-4} haloalkyl, amino, C_{1-4} alkylamino, C_{2-8} dialkylamino, C_{1-4} alkyl, C_{1-4} alkoxy, C_{2-4} alkenyl, C_{2-4} alkynyl, C_{3-5} cycloalkyl, C_{1-4} haloalkoxy, C_{1-4} alkylthio, C_{1-4} alkylsulfinyl, C_{1-4} alkylsulfonyl, C_{1-4} haloalkylthio, C_{1-4} haloalkylsulfinyl and C_{1-4} haloalkylsulfonyl;
 R_2 is selected from the group consisting of H, halogen, hydroxy, thioxy, cyano, nitro, C_{1-4} haloalkyl, amino, C_{1-4} alkylamino, C_{2-8} dialkylamino, C_{1-4} alkyl, C_{1-4} alkoxy, C_{2-4} alkenyl, C_{2-4} alkynyl, C_{3-5} cycloalkyl, C_{1-4} haloalkoxy, C_{1-4} alkylthio, C_{1-4} alkylsulfinyl, C_{1-4} alkylsulfonyl, C_{1-4} haloalkylthio, C_{1-4} haloalkylsulfinyl and C_{1-4} haloalkylsulfonyl;
or R_2 is absent:

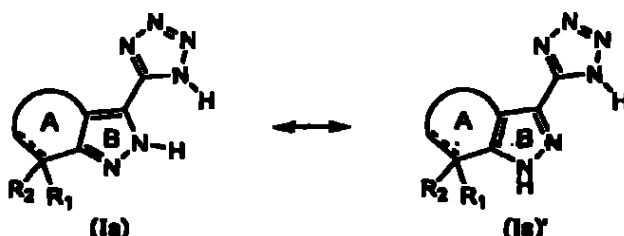
Ring A is a 5-membered carbocyclic ring or a 5-membered heterocyclic ring optionally substituted with 1 to 4 substituents selected from the group consisting of halogen, hydroxy, thioxy, cyano, nitro, C₁₋₄ haloalkyl amino, C₁₋₄ alkylamino, C₂₋₆ dialkylamino, C₁₋₄ alkyl, C₁₋₄ alkoxy, C₂₋₄ alkanyl, C₂₋₄ alkynyl, C₃₋₆ cycloalkyl, C₁₋₄ haloalkoxy, C₁₋₄ alkylthio, C₁₋₄ alkylsulfinyl, C₁₋₄ alkylsulfonyl, C₁₋₄ haloalkylthio, C₁₋₄ haloalkylsulfinyl and C₁₋₄ haloalkylsulfonyl; or a pharmaceutically acceptable salt, solvate or hydrate thereof.

•

265



[0085] Another example includes embodiments wherein X is NH. It is well appreciated to those of skill in the art that pyrazole heterocycles can exist in at least two tautomeric forms and although Formula (I) represents one form it is understood that all tautomeric forms are embraced by the present invention; by way of illustration, two possible tautomers for the pyrazole wherein X is NH in Formula (I) are shown below:



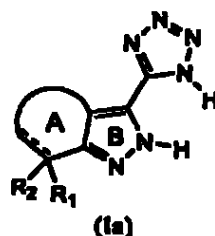
Further, it is understood that when X is NH then tautomers can exist for both Ring B and also the tetrazole ring in combination. It is understood that all tautomers that can exist for the compounds disclosed herein are within the scope of the invention.

[0089] The present invention also encompasses diastereomers as well as optical isomers, e.g. mixtures of enantiomers including racemic mixtures, as well as individual enantiomers and diastereomers, which arise as a consequence of structural asymmetry in certain compounds of the present invention. In some embodiments, compounds of the present invention are R. In some embodiments, compounds of the present are S. In some embodiments, compounds of the present invention are racemic mixtures.

[0090] It is appreciated that certain features of the invention, which are, for clarity, described in the context of separate embodiments, may also be provided in combination in a single embodiment. Conversely, various features of the invention which are, for brevity, described in the context of a single embodiment, may also be provided separately or in any suitable subcombination.

[0091] As used herein, "substituted" indicates that at least one hydrogen atom of the chemical group is replaced by a non-hydrogen substituent or group. When a chemical group herein is "substituted" it may have up to the full valence of substitution; for example, a methyl group can be substituted by 1, 2, or 3 substituents, a methylene group can be substituted by 1 or 2 substituents, a phenyl group can be substituted by 1, 2, 3, 4, or 5 substituents, and the like.

[0092] One embodiment of the present invention pertains to compounds of Formula (I) wherein X is NH. This embodiment can be represented by Formula (Ia) as illustrated below:



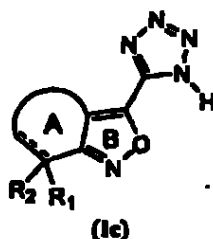
wherein each variable in Formula (Ia) has the same meaning as described herein, *supra* and *infra*.

[0093] One embodiment of the present invention pertains to compound of Formula (I) wherein X is NH, R₁ is H or hydroxy; R₂ is H or absent; — is a single bond when R₂ is H, or = is a double bond when R₂ is absent; and Ring A is a 5-membered carbocyclic ring or a 5-membered heterocyclic ring optionally substituted with 1 to 4 substituents selected

266

from the group consisting of halogen, C₁₋₄ alkyl, C₁₋₄ alkoxy and C₃₋₅ cycloalkyl; or a pharmaceutically acceptable salt, solvate or hydrate thereof.

[0094] One embodiment of the present invention pertains to compounds of Formula (I) wherein X is O. This embodiment can be represented by Formula (Ic) as illustrated below:



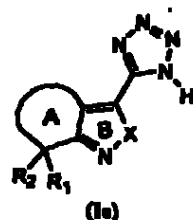
wherein each variable in Formula (Ic) has the same meaning as described herein, *supra* and *infra*.

[0095] One embodiment of the present invention pertains to compounds of Formula (I) wherein R₁ is selected from the group consisting of H, halogen, hydroxy, C₁₋₄ haloalkyl, C₁₋₄ alkyl, C₁₋₄ alkoxy, C₂₋₄ alkenyl, C₂₋₄ alkynyl, C₁₋₄ alkylthio, and C₁₋₄ haloalkoxy. In some embodiments, R₁ is selected from the group consisting of H, halogen, C₁₋₄ haloalkyl, and C₁₋₄ alkyl. In some embodiments, R₁ is F. In some embodiments, R₁ is H.

[0096] One embodiment of the present invention pertains to compounds of Formula (I) wherein R₂ is selected from the group consisting of H, halogen, hydroxy, C₁₋₄ haloalkyl, C₁₋₄ alkyl, C₁₋₄ alkoxy, C₂₋₄ alkenyl, C₂₋₄ alkynyl, C₁₋₄ alkylthio, and C₁₋₄ haloalkoxy. In some embodiments, R₂ is selected from the group consisting of H, halogen, C₁₋₄ haloalkyl, and C₁₋₄ alkyl. In some embodiments, R₂ is F. In some embodiments, R₂ is H.

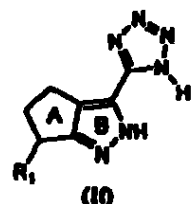
[0097] One embodiment of the present invention pertains to compounds of Formula (I) wherein R₁ and R₂ are both H.

[0098] One embodiment of the present invention pertains to compounds of Formula (I) wherein Ring A is a 5-membered carbocyclic ring. The term "5-membered carbocyclic ring" denotes a ring containing 5 ring carbons wherein two ring carbons are shared by rings A and B. Ring A can be saturated (i.e. no ring double bonds), unsaturated (i.e., containing ring double bonds) or a combination thereof. In some embodiments, — is a single bond and R₂ is present. This embodiment can be represented by formula (Ie) as illustrated below:



wherein each variable in Formula (Ie) has the same meaning as described herein, *supra* and *infra*.

[0099] One embodiment of the present invention pertains to compounds having Formula (If):



wherein:

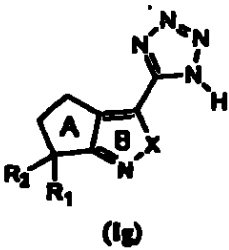
R₁ is H or hydroxy; and Ring A is optionally substituted with 1 or 2 substituents selected from the group consisting of halogen, C₁₋₄ alkyl, C₁₋₄ alkoxy and C₃₋₅ cycloalkyl; or a pharmaceutically acceptable salt, solvate or hydrate thereof.

207

[0100] In some embodiments, Ring A is a 5-membered carbocyclic ring. In one embodiment, Ring A is a 5-membered carbocyclic ring and can be represented by Formula (Ig) as illustrated below:

5

10



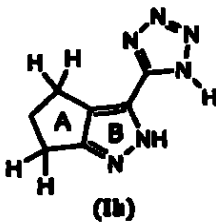
15

wherein each variable in Formula (Ig) has the same meaning as described herein, *supra* and *infra*. In some embodiments, R₁ is C₁₋₄ alkoxy. In some embodiments, R₁ is C₁₋₄ alkyl. In some embodiments, R₁ and R₂ are both H.

[0101] One embodiment of the present invention pertains to compounds having Formula (Ih):

20

25



wherein:

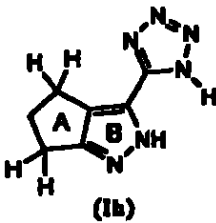
30

Ring A is optionally substituted with 1 or 2 substituents selected from the group consisting of halogen, C₁₋₄ alkyl, C₁₋₄ alkoxy and C₃₋₅ cycloalkyl; or a pharmaceutically acceptable salt, solvate or hydrate thereof.

[0102] One embodiment of the present invention pertains to compounds having Formula (Ih):

35

40



45

wherein:

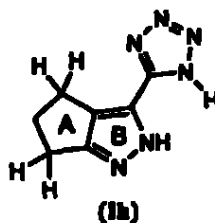
Ring A is substituted with 1 or 2 substituents selected from the group consisting of halogen, *n*-propyl, *n*-butyl, C₁₋₄ alkoxy and C₃₋₅ cycloalkyl; or a pharmaceutically acceptable salt, solvate or hydrate thereof.

50

[0103] One embodiment of the present invention pertains to compounds having Formula (Ih):

55

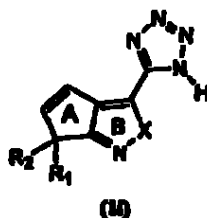
268



wherein:

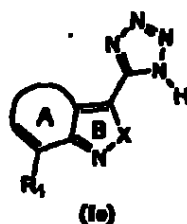
Ring A is unsubstituted or is substituted with ethyl; or a pharmaceutical acceptable salt, solvate or hydrate thereof.

[0104] In one embodiment, Ring A is a 5-membered carbocyclic ring and is further unsaturated (i.e., a ring double bond). This embodiment can be represented by Formula (II) as illustrated below:

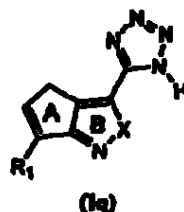


wherein each variable in Formula (II) has the same meaning as described herein, *supra* and *infra*.

[0105] One embodiment of the present invention pertains to compounds of Formula (I) wherein Ring A is a 5-membered carbocyclic ring, as described herein *supra*. In some embodiments, -- is a double bond and R_2 is absent. This embodiment can be represented by Formula (Ic) as illustrated below:



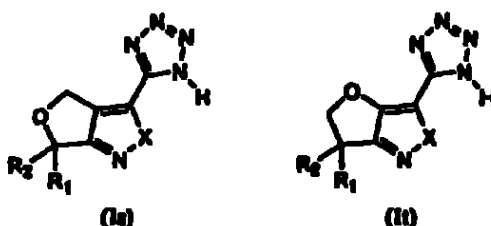
wherein each variable in Formula (Ic) has the same meaning as described herein, *supra* and *infra*. In some embodiments, Ring A is a 5-membered carbocyclic ring. This embodiment can be represented by Formula (Iq) as illustrated below:



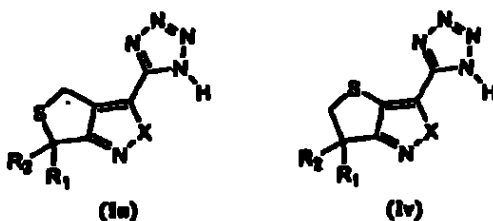
wherein each variable in Formula (Iq) has the same meaning as described herein, *supra* and *infra*.

[0106] One embodiment of the present invention pertains to compounds of Formula (I) wherein Ring A is a 5-membered heterocyclic ring. The term "5-membered heterocyclic ring" denotes a 5-membered carbocyclic ring, as described herein

supra, wherein 1, 2 or 3 ring carbons not shared by Rings A and B are independently replaced with -O-, -S-, -S(O)-, or -S(O)₂-. For clarity, as described herein *supra*, Ring A can be saturated (i.e. no ring double bonds), unsaturated (i.e., containing ring double bonds) or a combination thereof. In some embodiments, $\equiv$ is a single bond and R₂ is present. In some embodiments, Ring A is a 5-membered heterocyclic ring. In some embodiments, one ring carbon of the 5-membered heterocyclic ring is replaced with a ring oxygen atom; these embodiments can be represented by the following Formulae (Ia) and (It):

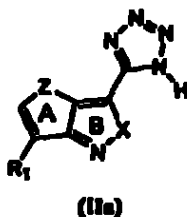


wherein each variable in Formulae (Ia) and (It) have the same meaning as described herein, *supra* and *infra*. In some embodiments, compounds of the present invention are of Formula (Ia) wherein X is NH. In some embodiments, compounds of the present invention are of Formula (Ia) wherein X is O (an oxygen atom). In some embodiments, compounds of the present invention are of Formula (It) wherein X is NH. In some embodiments, compounds of the present invention are of Formula (It) wherein X is O (an oxygen atom). In some embodiments, compounds of the present invention are of Formula (Ia) wherein R₁ is C₁₋₄ alkyl and R₂ is H. In some embodiments, compounds of the present invention are of Formula (Ia) wherein both R₁ and R₂ are H. In some embodiments, compounds of the present invention are of Formula (It) wherein R₁ is C₁₋₄ alkyl and R₂ is H. In some embodiments, compounds of the present invention are of Formula (It) wherein both R₁ and R₂ are H. In some embodiments, one ring carbon of the 5-membered heterocyclic ring is replaced with a ring sulfur atom; these embodiments can be represented by the following Formulae (Iu) and (Iv):



wherein each variable in Formulae (Iu) and (Iv) have the same meaning as described herein, *supra* and *infra*. In some embodiments, the ring sulfur in Formulae (Iu) and (Iv) is further oxidized to a sulfoxide (i.e., -S(O)-). In some embodiments, the ring sulfur in Formulae (Iu) and (Iv) is further oxidized to a sulfone (i.e., -S(O)₂-). In some embodiments, compounds of the present invention are of Formula (Iu) wherein X is NH. In some embodiments, compounds of the present invention are of Formula (Iu) wherein X is O (an oxygen atom). In some embodiments, compounds of the present invention are of Formula (Iv) wherein X is NH. In some embodiments, compounds of the present invention are of Formula (Iv) wherein X is O (an oxygen atom).

[0107] One embodiment of the present invention pertains to compounds of Formula (I) wherein Ring A is a 5-membered heterocyclic ring. In some embodiments, $\equiv$ is a double bond and R₂ is absent. In some embodiments, Ring A is a 5-membered heterocyclic ring. This embodiment can be represented by Formula (IIa) as illustrated below:



wherein each variable in Formula (IIa) has the same meaning as described herein, *supra* and *infra*, and Z is -O-, -S-, -S(O)-, or -S(O)₂-.

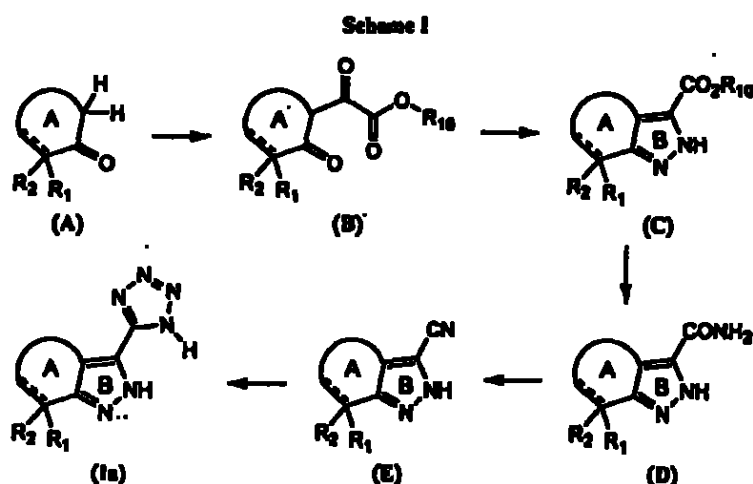
[0108] One embodiment of the present invention pertains to compounds of Formula (I), and subgenera disclosed herein, wherein Ring A is optionally substituted with substituents selected from the group consisting of halogen, hydroxy, C₁₋₄ haloalkyl, C₁₋₄ alkyl, C₁₋₄ alkoxy, C₂₋₄ alkenyl, C₂₋₄ alkynyl, C₁₋₄ alkylthio, and C₁₋₄ haloalkoxy. In some embodiments, Ring A is optionally substituted with substituents selected from the group consisting of halogen, C₁₋₄ haloalkyl, and C₁₋₄ alkyl. In some embodiments, Ring A is optionally substituted with F. In some embodiments, Ring A is optionally substituted with 1 to 4 substituents. In some embodiments, Ring A is optionally substituted with 1 to 3 substituents. In some embodiments, Ring A is optionally substituted with 1 to 2 substituents. In some embodiments, Ring A is optionally substituted with 1 substituent. In some embodiments, Ring A is not substituted.

CHEMISTRY OF THE PRESENT INVENTION

Synthesis of Compounds of Formula (I)

[0109] Also described herein is a synthetic process for the preparation of novel tetrazoles of Formula (I). The compounds of the present invention can be readily prepared according to this novel process utilizing a variety of starting materials that are commercially available or readily prepared by synthetic regimes which would be familiar to one skilled in the art. In the illustrated syntheses outlined below, unless stated otherwise, the labeled substituents have the same identifications as set out in the definitions of the compound described above for Formula (I).

[0110] One method that can be used to prepare compounds of the invention wherein X is NH (i.e., Ring B is a pyrazole) utilizes intermediates derived from the cyclic ketone of Formula (A) as illustrated in Reaction Scheme I below:



Compounds of Formula (Ia) can be prepared by reacting a cyclic ketone of Formula (A) with dialkyl oxalate of formula (C(O)OR₁₀)₂, wherein R₁₀ is a C₁₋₃ alkyl, in the presence of a base and a polar solvent such as, but not limited to, C₁₋₃ alkanol, methanol, ethanol, butanol, pentanol, hexanol, 2-methoxyethanol, isopropanol, THF, DMF and the like to give ketoester of Formula (B). Suitable bases include alkali metal alkoxides, for example, sodium methoxide, sodium ethoxide, potassium ethoxide, potassium *t*-butoxide, and the like; alkali metal amides (i.e., alkali metal-NR₁₁ wherein R₁₁ is C₁₋₃ alkyl or allyl-C₁₋₃-alkyl), for example, lithium diisopropylamide, lithium hexamethyldisilazane, sodium hexamethyldisilazane, potassium hexamethyldisilazane and like bases. Ketoester (B) is reacted with hydrazine, either protected or unprotected hydrazine can be used, under suitable conditions to give pyrazole ester of Formula (C). Optionally, the pyrazole can be protected, for example, with a benzyl group and the like. The ester is converted to amide of Formula (D) using methods known to one of skill in the art, for example, treating with ammonia in a polar solvent at temperature from room temperature to the boiling point of the solvent. Amide (D) is reacted with a dehydrating reagent, such as phosphorous oxychloride, phosphorous pentoxide, thionyl chloride, and the like, either neat or in the presence of a nonprotic solvent, such as acetonitrile, DMF, and the like, to give nitrile (E). Nitrile (E) is reacted with an azide (i.e., N₃) or azide equivalent, such as, sodium azide, potassium azide, trimethylsilyl azide (i.e., (CH₃)₃SiN₃), and the like to give tetrazole of Formula (Ia). In some instances it can be beneficial to include the presence of a Lewis acid, for example, AlCl₃, ZnBr₂, and the like, in a suitable solvent, such as, DMF and the like.

271

[0111] One method that can be used to prepare compounds of Formula (I) wherein X is a ring oxygen (i.e., Ring B is a isoxazole) utilizes intermediates derived from the alkynyl alcohol of Formula (J) as illustrated in Reaction Scheme II below:

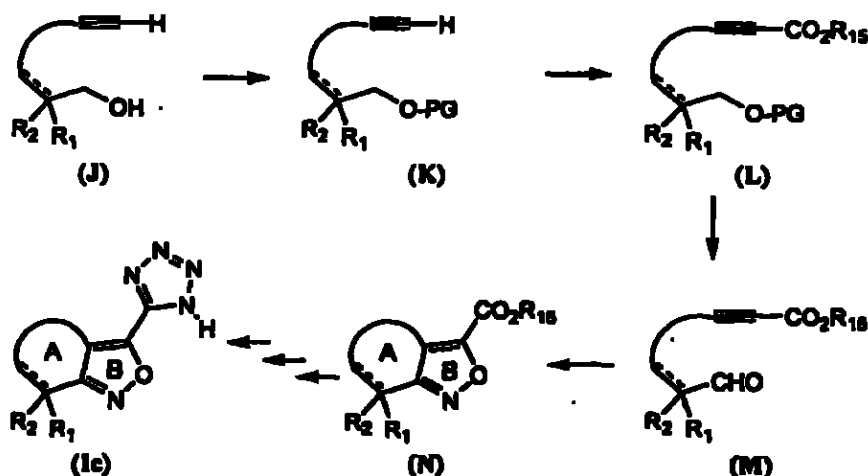
5

Scheme II

10

15

20



25

30

35

Compounds of Formula (Ic) can be prepared by protecting an alkynyl alcohol of Formula (J) with a suitable protecting group, for example, THP, TBDMS, and the like to give alkynyl (K). Alkynyl (K) is converted to an alkynyl ester of Formula (L, wherein R₁₅ is C₁₋₈ alkyl) by treatment with a strong base followed by reacting with a C₁₋₈ alkyl chloroformate. A suitable strong base is an alkyl lithium, for example but not limited to, n-butyl lithium, t-butyl lithium and the like. Intermediate (L) is subsequently deprotected using methods known to those of skill in the art, for example, the THP group can typically be removed via treatment with an acid (e.g. PTSA) and TBDMS group can typically be removed via treatment with a tetra-alkylammonium fluoride. The resulting alcohol is oxidized to aldehyde (M) using any variety of methods, for example, Dess-Martin periodinane (i.e., 1,1,1-triacetoxy-1,1-dihydro-1,2-benziodoxol-3(1H)-one), Swern Oxidation, Corey oxidation with NCS or any other suitable method as described by Hudlicky, M. in *Oxidations in Organic Chemistry*, ACS Monograph 186 (1990). Aldehyde (M) is treated with hydroxylamine in the presence of a base, followed by NCS and Base to give isoxazole alkyl ester (N). Isoxazole (N) can be converted to compounds of Formula (Ic) in a substantially similar manner as described above in Reaction Scheme I, (i.e., -CO₂-C₁₋₈-alkyl → -CONH₂ → -C≡N → -tetrazole).

[0112] One method that can be used to prepare certain compounds of Formula (I) utilizes intermediate (AJ) as illustrated in Reaction Schemes III and IV below:

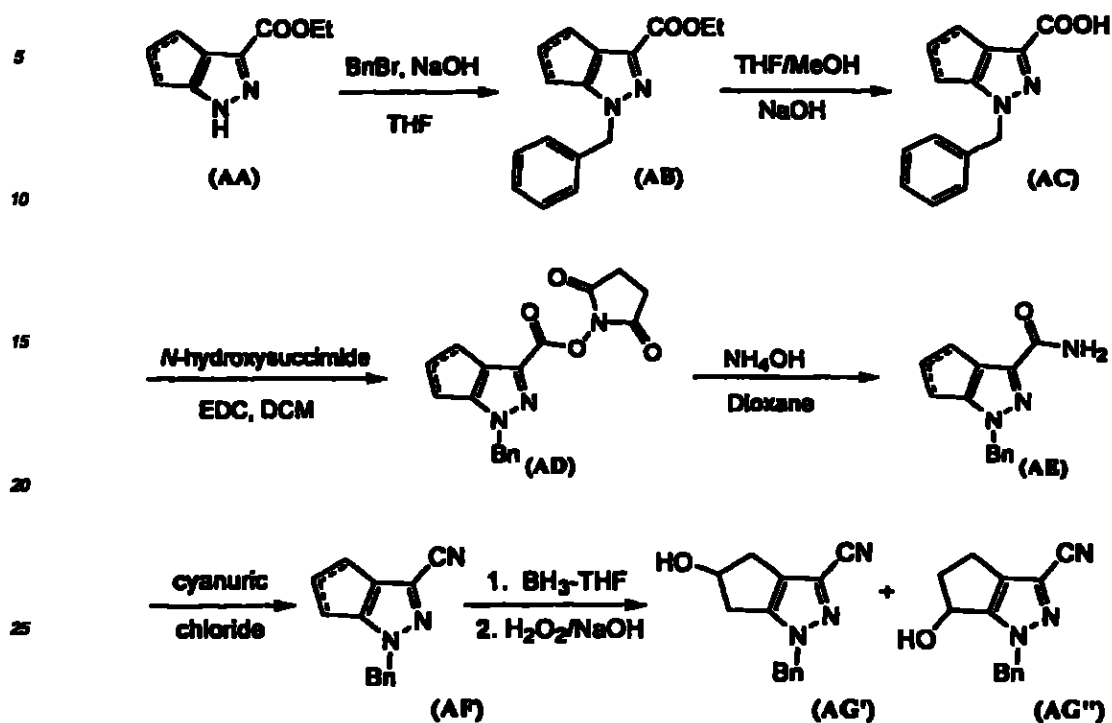
40

45

50

55

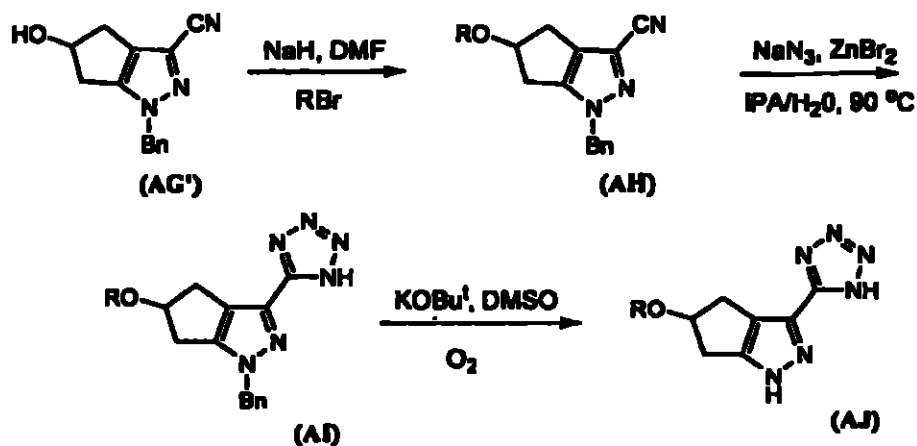
Scheme III



[0113] Compounds of the structure (AJ) (wherein R is C₁₋₄ alkyl, C₂₋₄ alkenyl, and C₂₋₄ alkynyl) can be prepared by treating the unsaturated pyrazole (AA) with benzyl bromide in a suitable solvent like THF in the presence of NaOH as the base to give the N-benzyl pyrazole (AB). The pyrazole (AB) can be saponified using methods known to one of skill in the art, for example, treating with aqueous sodium hydroxide in a solvent mixture such as THF/MeOH. The acid (AC) is coupled with N-hydroxy succinimide using a coupling reagent such as EDC. The ester (AD) is converted to the amide (AE) by treatment with concentrated NH₄OH solution in a solvent such as 1,4-dioxane. The amide (AE) can be reacted with a dehydrating reagent such as cyanuric chloride, trifluoro acetic anhydride, thionyl chloride and like, in the presence of a non protic solvent such as DMF to give the nitrile (AF). The nitrile (AF) is treated with an excess of borane-THF solution in a solvent like THF at low temperature, followed by oxidation with hydrogen peroxide in the presence of sodium hydroxide to give a 1:1 mixture of alcohols shown as (AG') and (AG'').

[0114] Utilizing either alcohol (AG') or alcohol (AG'') a variety of ethers can be prepared. A representative synthesis is shown in Reaction Scheme IV using alcohol (AG'). It is understood that a similar synthetic scheme can be utilized starting with alcohol (AG'').

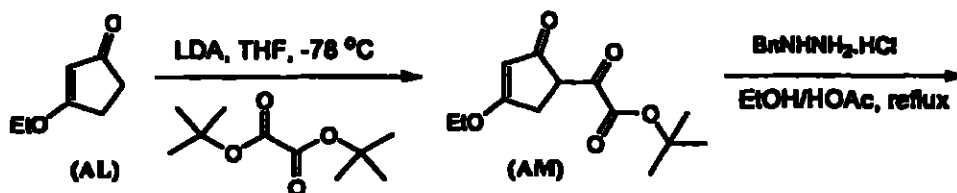
Scheme IV

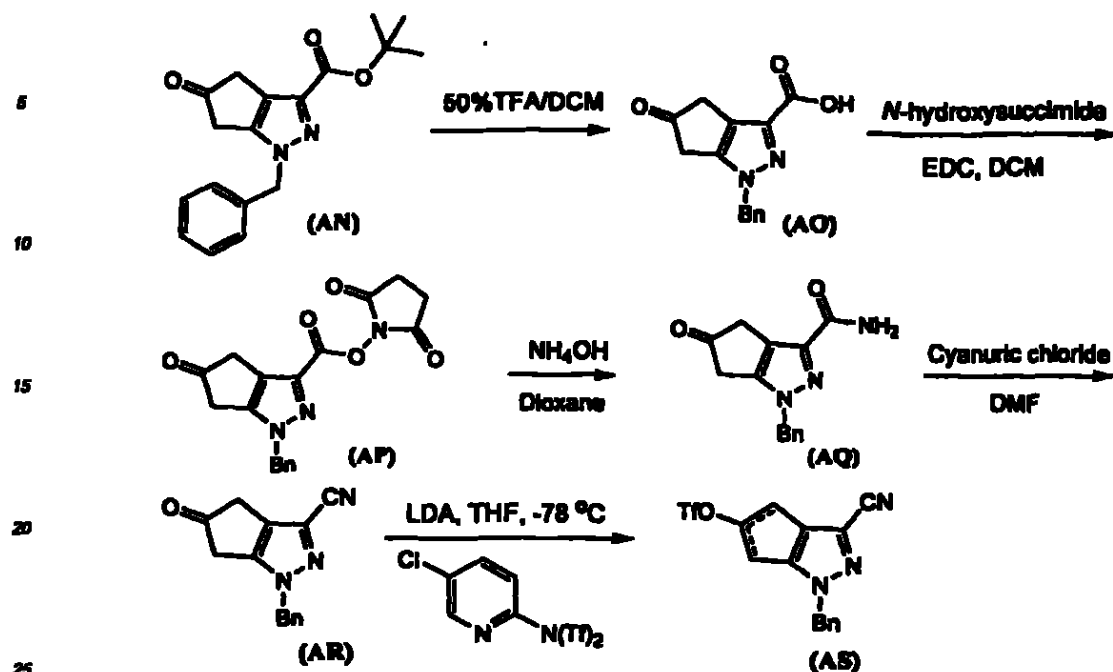


[0115] Compounds of the structure (AH) can be prepared by treating the alcohol intermediate (AG') with an excess of alkyl halide in the presence of a base such as sodium hydride in an aprotic solvent such as DMF. The nitrile (AH) is reacted with an azide such as sodium azide, in the presence of a Lewis acid such as zinc bromide, to give the tetrazole of the structure (AI). Final compounds can be prepared by removal of the benzyl protecting group under oxidative conditions in a solvent like DMSO using a base such as potassium t-butoxide and oxygen gas.

[0116] One method that can be used to prepare certain compounds of Formula (I) utilizes intermediate (AS) as illustrated in Reaction Scheme V below.

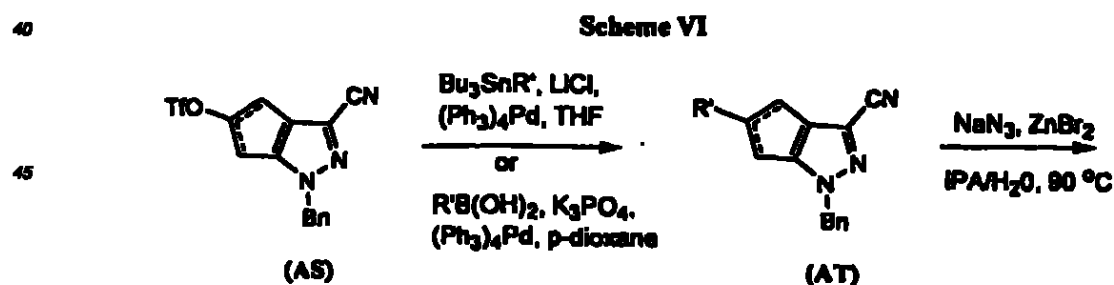
Scheme V

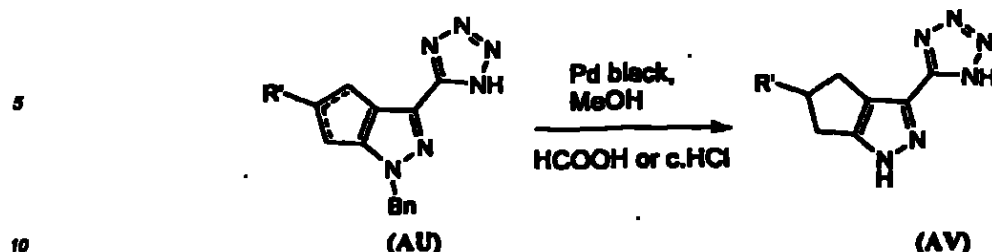




[0117] Compounds of the structure (AV) can be prepared from 3-ethoxy-cyclopentenone by treatment with dialkyl-oxalate such as di-tert-butyl oxalate or diethyloxalate in the presence of a non-nucleophilic base such as LDA or LHMDs in a solvent such as THF to give the keto-ester (AM). The keto ester (AM) is reacted with benzyl hydrazine under reflux in a polar solvent, such as ethanol or methanol containing glacial acetic acid to give the pyrazole (AN). Alternatively, the keto-ester (AM) can be reacted with hydrazine, followed by alkylation of the pyrazole with benzyl bromide using cesium carbonate as the base in a non-protic solvent such as DMF. The pyrazole ester (AN) can be converted to the nitrile (AR) using a similar sequence of steps described for (AG'). The ketone (AR) is converted to the vinyl triflate (AS) using Comins' reagent in the presence of LDA in a solvent such as THF.

[0118] Utilizing compound (AS), a variety of substituents (wherein R' is C₁₋₄ alkyl, C₂₋₄ alkenyl, and C₂₋₄ alkynyl) can be introduced at C-5 as shown in Reaction Scheme VI.

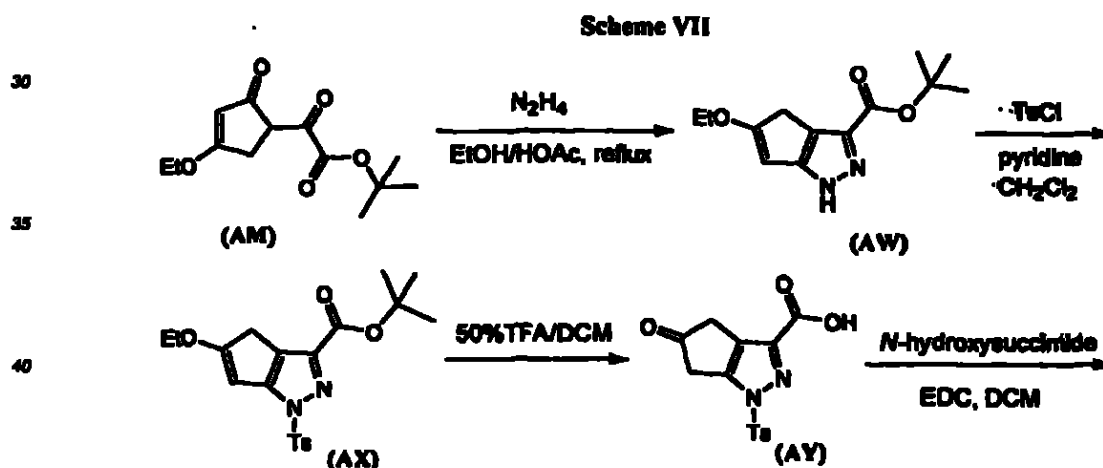


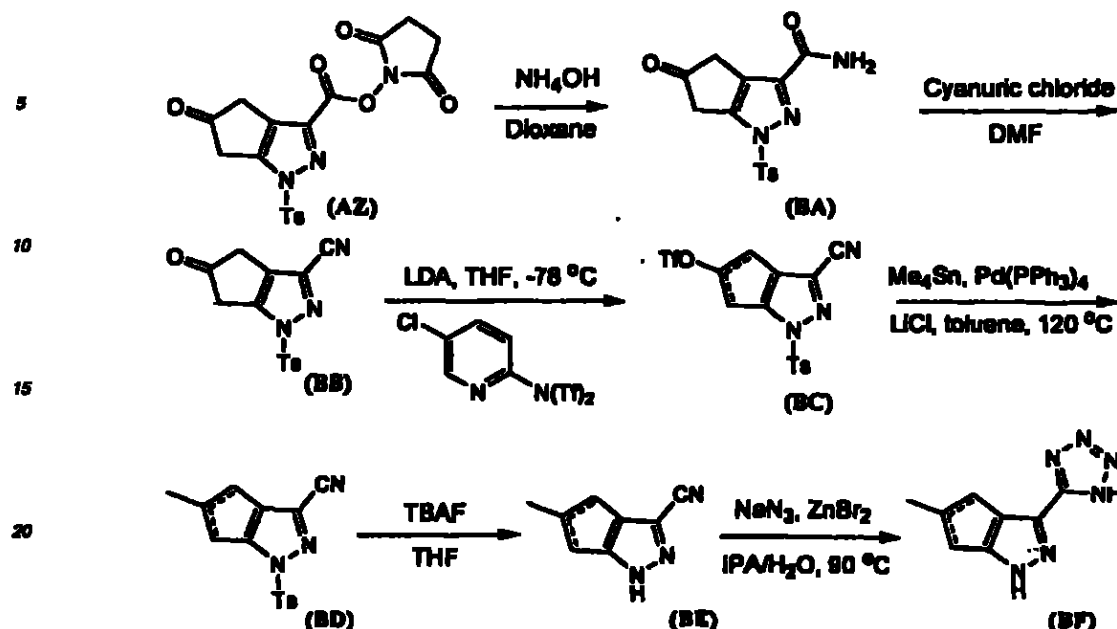


[0119] The triflate (AS) can be reacted with a suitable stannane reagent in the presence of a base such as lithium chloride and a catalyst such as tetrakis triphenyl phosphine palladium (0) in a suitable solvent such as THF or toluene. Alternatively, the triflate (AS) can be reacted with a suitable alkenyl boronic acid in the presence of a base such as potassium phosphate and a catalyst such as tetrakis triphenyl phosphine palladium (0) in a suitable solvent such as 1,4-dioxane. The nitrile (AT) is reacted with an azide such as sodium azide, in the presence of a Lewis acid such as zinc bromide, to give the tetrazole of the structure (AU). Final compounds are prepared by the removal of the benzyl protecting group that can be performed under reductive conditions using palladium black in a polar solvent such as methanol or ethanol and acid such as formic acid or concentrated hydrochloric acid.

[0120] Alternatively, alcohol (AG') may be fluorinated using methods known to those skilled in the art, such as DAST [(diethylamino)sulfur trifluoride], to provide a fluoro compound which can be elaborated to its tetrazole derivative and deprotected using methods described herein.

[0121] One method that can be used to prepare certain compounds of Formula (I) is illustrated in Reaction Scheme VII below:





[0122] A compound of the structure (BF) can be prepared from the keto ester (AM) by reacting with hydrazine hydrate in a polar solvent such as ethanol containing glacial acetic acid to give the pyrazole (AW). The pyrazole (AW) can be reacted with a sulfonyl chloride such as p-toluene sulfonyl chloride in a solvent such as CH_2Cl_2 in the presence of a base such as pyridine to give the N-sulfonylated derivative (AX). The pyrazole ester (AX) can be deprotected under acidic conditions using an acid such as TFA in CH_2Cl_2 to form (AY). The pyrazole acid (AY) can be converted to the nitrile (BB) using a similar sequence of steps described for (AG'). The ketone (BB) can be converted to the vinyl triflate (BC) using Commins' reagent in the presence of a base such as LDA in a solvent such as THF.

[0123] The triflate (BC) can be coupled with tetramethyltin in the presence of a base such as lithium chloride and a catalyst such as tetrakis triphenyl phosphine palladium (0) in a suitable solvent such as THF or toluene. The p-toluene sulfonyl group can be removed by reacting with tetra butyl ammonium fluoride solution in a solvent such as THF to give the pyrazole (BE). The final compound is prepared by reacting the nitrile (BE) with an azide such as sodium azide, in the presence of a Lewis acid such as zinc bromide, to give the tetrazole (BF).

[0124] The various organic group transformations and protecting groups utilized herein can be performed by a number of procedures other than those described above. References for other synthetic procedures that can be utilized for the preparation of intermediates or compounds disclosed herein can be found in, for example, Smith, M. B.; and March, J., *Advanced Organic Chemistry*, 5th Edition, Wiley-Interscience (2001); Larock, R.C., *Comprehensive Organic Transformations, A Guide to Functional Group Preparations*, 2nd Edition, VCH Publishers, Inc. (1999), or Wuts, P. G. M.; Greene, T. W.; *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3rd Edition, John Wiley and Sons, (1999), all three incorporated herein by reference in their entirety.

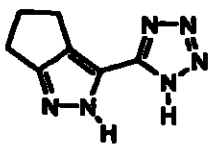
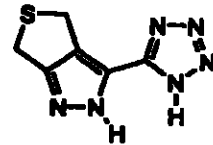
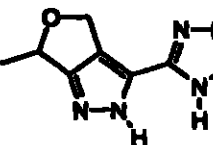
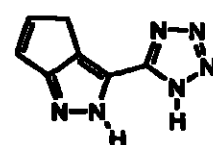
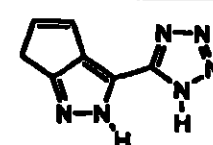
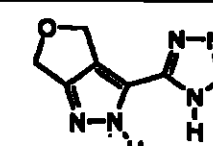
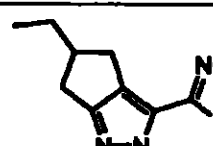
[0125] Compounds of Formula (I) may have one or more chiral centers, and therefore exist as enantiomers or diastereomers. The invention is understood to extend to all such enantiomers, diastereomers and mixtures thereof, including racemates. Formula (I) and the formulae described herein, *supra*, are intended to represent all individual isomers and mixtures thereof, unless stated or shown otherwise.

[0126] Racemic mixtures can be resolved into the optical pure enantiomers by known methods, for example, by separation of diastereomeric salts thereof with an optically active acid, and liberating the optically active amine compound by treatment with a base. Another method for resolving racemates into the optical pure enantiomers is based upon chromatography on an optically active matrix or chiral support. Certain racemic compounds of the present invention can thus be resolved into their optical antipodes, e.g., by fractional crystallization of d- or l-(tartrates, mandelates, or camphorsulphonate) salts for example. The compounds of the present invention may also be resolved by the formation of diastereomeric amides or ester by reaction of the compounds of the present invention with an optically active activated carboxylic acid such as that derived from (+) or (-) phenylalanine, (+) or (-) phenylglycine, (+) or (-) camphoric acid or by the formation of diastereomeric carbamates by reaction of the compounds of the present invention with an optically active chloroformate or the like subsequently hydrolyzed.

277

[0127] Additional methods for the resolution of optical isomers known to those skilled in the art can be used and will be apparent to the average worker skilled in the art. Such methods include those discussed by J. Jaques, A. Collet, and S. Wilen in "Enantiomers, Racemates, and Resolutions", John Wiley and Sons, New York (1981).
[0128] Representative examples of compound of Formula (I) are shown below in TABLE A.

TABLE A

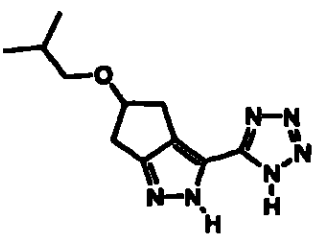
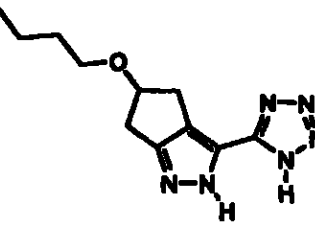
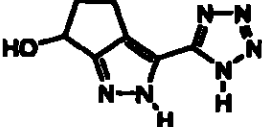
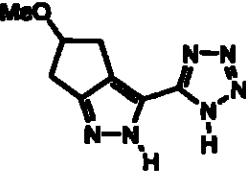
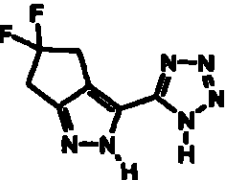
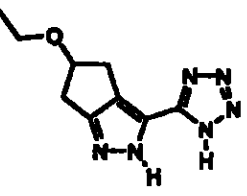
Cmpd#	Structure	Chemical Name
1		3-(1H-Tetrazol-5-yl)-2,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazole
2		3-(1H-Tetrazol-5-yl)-2,6-dihydro-4H-thieno[3,4-c]pyrazole
3		6-Methyl-3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,6-dihydro-4H-furo[3,4-c]pyrazole
4		3-(1H-Tetrazol-5-yl)-2,4-dihydrocyclopentapyrazole
5		3-(1H-Tetrazol-5-yl)-2,6-dihydrocyclopentapyrazole
6		3-(1 H-Tetrazol-5-yl)-2,6-dihydro-4H-furo[3,4-c]pyrazole
7		5-Ethyl-3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazole

278

Table continued

Cmpd#	Structure	Chemical Name
8		5-Butyl-3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazole
9		5-Methyl-3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,6-dihydro-cyclopentapyrazole
10		5-Methyl-3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,4-dihydro-cyclopentapyrazole
11		5-Propyl-3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazole
12		5-Propoxy-3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazole
13		5-Cyclopentyl-3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazole
14		5-Fluoro-3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazole

Table continued

Cmpd#	Structure	Chemical Name
15		5-isobutoxy-3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,4,5,6-tetrahydrocyclopentapyrazole
16		5-Butoxy-3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,4,5,6-tetrahydrocyclopentapyrazole
17		3-(1H-Tetrazol-5-yl)-2,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazol-6-ol
18		5-Methoxy-3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,4,5,6-tetrahydrocyclopentapyrazole
19		5,5-Difluoro-3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,4,5,6-tetrahydrocyclopentapyrazole
20		5-Ethoxy-3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,4,5,6-tetrahydrocyclopentapyrazole

Methods and Uses

[0129] Compounds of the present invention are useful in the inhibition of the production of free fatty acids. Further, compounds of the present invention are useful in the inhibition of the production of free fatty acids while resulting in substantially lower or in some instances no measurable flushing side effects, which effects are commonly associated with the administration of niacin. Compounds of the present invention typically do not cause vasodilation at doses as

280

high as about 300 mpk as measured using methods known in the art, such as the method shown in Example 7.

[0130] In some embodiments, compounds of the present invention cause essentially no measurable flushing in an individual compared to an essentially equally effective dose of niacin. In other embodiments compounds of the present invention cause less than about 80%, 75%, 70%, 65%, 60%, 55%, 50%, 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15%, 10%, 5%, or 1% measurable flushing in an individual compared to an essentially equally effective dose of niacin.

[0131] Compounds of the present invention can modulate the activity of the RUP25 receptor. The term "modulate" is meant to refer to the ability to increase or decrease activity of the receptor. In some embodiments, compounds of the invention can be used in methods of modulating a RUP25 receptor by contacting the receptor with any one or more of the compound as described herein. In still other embodiments, compounds of the invention can be used in methods of method of modulating a RUP25 receptor for the treatment of a metabolic-related disorder in an individual in need of such modulation comprising contacting the receptor with a therapeutically-effective amount of a compound of Formula (I). In some embodiments, compounds of the invention increase activity of the RUP25 receptor. In further embodiments, compounds of the invention are agonists of the RUP25 receptor. The term "agonist", as used herein, refers to agents that can stimulate activity of the receptor (i.e., activate), like the RUP25 receptor. In some embodiments, compounds of the invention are partial agonists of the RUP25 receptor.

[0132] Also described herein are methods of treatment of a metabolic-related disorder comprising administering to an individual in need of such treatment a therapeutically-effective amount of a compound of Formula (I).

[0133] Also described herein are methods of raising HDL in an individual comprising administering to said individual a therapeutically-effective amount of a compound of Formula (I).

[0134] Another aspect of the present invention pertains to compounds of Formula (I), as described herein, for use in a method of treatment of the human or animal body by therapy.

[0135] Another aspect of the present invention pertains to compounds of Formula (I), as described herein, for use in a method of treatment of a metabolic-related disorder of the human or animal body by therapy.

[0136] Another aspect of the present invention pertains to compounds of Formula (I), as described herein, for use in a method of treatment of a metabolic-related disorder of the human or animal body by therapy wherein said metabolic-related disorder is selected from the group consisting of dyslipidemia, atherosclerosis, coronary heart disease, insulin resistance, obesity, impaired glucose tolerance, atheromatous disease, hypertension, stroke, Syndrome X, heart disease and type 2 diabetes.

[0137] Another aspect of the present invention pertains to compounds of Formula (I), as described herein, for use in a method of treatment of a metabolic-related disorder of the human or animal body by therapy wherein said metabolic-related disorder is selected from the group consisting of dyslipidemia, atherosclerosis, coronary heart disease, insulin resistance and type 2 diabetes.

[0138] Another aspect of the present invention pertains to compounds of Formula (I), as described herein, for use in a method of treatment of atherosclerosis of the human or animal body by therapy.

[0139] Another aspect of the present invention pertains to compounds of Formula (I), as described herein, for use in a method of raising HDL of the human or animal body by therapy.

[0140] Another aspect of the present invention pertains to uses of the compounds of Formula (I), as described herein, for the manufacture of a medicament for use in the treatment of a metabolic-related disorder.

[0141] Another aspect of the present invention pertains to uses of the compounds of Formula (I), as described herein, for the manufacture of a medicament for use in the treatment of a metabolic-related disorder selected from the group consisting of dyslipidemia, atherosclerosis, coronary heart disease, insulin resistance, obesity, impaired glucose tolerance, atheromatous disease, hypertension, stroke, Syndrome X, heart disease and type 2 diabetes.

[0142] Another aspect of the present invention pertains to uses of the compounds of Formula (I), as described herein, for the manufacture of a medicament for use in the treatment of atherosclerosis.

[0143] Another aspect of the present invention pertains to uses of the compounds of Formula (I), as described herein, for the manufacture of a medicament for use in raising HDL in an individual.

[0144] Some embodiments of the present invention relate to methods of treatment of metabolic-related disorders. In some embodiments the metabolic-related disorder is of the group consisting of dyslipidemia, atherosclerosis, coronary heart disease, insulin resistance, obesity, impaired glucose tolerance, atheromatous disease, hypertension, stroke, Syndrome X, heart disease and type 2 diabetes. In some embodiments the metabolic-related disorder is dyslipidemia, atherosclerosis, coronary heart disease, insulin resistance and type 2 diabetes. In some embodiments the metabolic-related disorder is dyslipidemia. In some embodiments the metabolic-related disorder is atherosclerosis. In some embodiments the metabolic-related disorder is coronary heart disease. In some embodiments the metabolic-related disorder is insulin resistance. In some embodiments the metabolic-related disorder is type 2 diabetes.

[0145] In some embodiments of the present invention, the individual is a mammal. In further embodiments, the mammal is a human.

[0146] Another aspect of the present invention pertains to methods of producing a pharmaceutical composition comprising admixing or combining a compound of Formula (I), as described herein, and a pharmaceutically acceptable carrier.

Compositions of the Present Invention

[0147] Some embodiments of the present invention include pharmaceutical compositions comprising a compound according to Formula (I) in combination with a pharmaceutically acceptable carrier.

[0148] Some embodiments of the present invention include a method of producing a pharmaceutical composition comprising admixing at least one compound according to any of the compound embodiments disclosed herein and a pharmaceutically acceptable carrier.

[0149] Formulations can be prepared by any suitable method, typically by uniformly mixing the active compound(s) with liquids or finely divided solid carriers, or both, in the required proportions, and then, if necessary, forming the resulting mixture into a desired shape.

[0150] Conventional excipients, such as binding agents, fillers, acceptable wetting agents, tableting lubricants, and disintegrants can be used in tablets and capsules for oral administration. Liquid preparations for oral administration can be in the form of solutions, emulsions, aqueous or oily suspensions, and syrups. Alternatively, the oral preparations can be in the form of dry powder that can be reconstituted with water or another suitable liquid vehicle before use. Additional additives such as suspending or emulsifying agents, non-aqueous vehicles (including edible oils), preservatives, and flavorings and colorants can be added to the liquid preparations. Parenteral dosage forms can be prepared by dissolving the compound of the invention in a suitable liquid vehicle and filter sterilizing the solution before filling and sealing an appropriate vial or ampoule. These are just a few examples of the many appropriate methods well known in the art for preparing dosage forms.

[0151] A compound of the present invention can be formulated into pharmaceutical compositions using techniques well known to those in the art. Suitable pharmaceutically-acceptable carriers, outside those mentioned herein, are known in the art; for example, see Remington, The Science and Practice of Pharmacy, 20th Edition, 2000, Lippincott Williams & Wilkins, (Editors: Gennaro, A. R., et al.).

[0152] While it is possible that a compound for use in treatment may, in an alternative use, be administered as a raw or pure chemical, it is preferable however to present the compound or "active ingredient" as a pharmaceutical formulation or composition further comprising a pharmaceutically acceptable carrier. Therefore, one aspect of the present invention encompasses pharmaceutical compositions comprising a pharmaceutically acceptable carrier in combination with at least one compound according to Formula (I).

[0153] The invention provides pharmaceutical formulations comprising a compound of the invention or a pharmaceutically acceptable salt, hydrate or solvate thereof together with one or more pharmaceutically acceptable carriers therefor. The carrier(s) must be "acceptable" in the sense of being compatible with the other ingredients of the formulation and not overly deleterious to the recipient thereof.

[0154] Pharmaceutical formulations include those suitable for oral, rectal, nasal, topical (including buccal and sublingual), vaginal or parenteral (including intramuscular, sub-cutaneous and intravenous) administration or in a form suitable for administration by inhalation, insufflation or by a transdermal patch. Transdermal patches dispense a drug at a controlled rate by presenting the drug for absorption in an efficient manner with a minimum of degradation of the drug. Typically, transdermal patches comprise an impermeable backing layer, a single pressure sensitive adhesive and a removable protective layer with a release liner. One of ordinary skill in the art will understand and appreciate the techniques appropriate for manufacturing a desired efficacious transdermal patch based upon the needs of the artisan.

[0155] The compounds of the invention, together with a conventional adjuvant, carrier, or diluent, may thus be placed into the form of pharmaceutical formulations and unit dosages thereof, and in such form can be employed as solids, such as tablets or filled capsules, or liquids such as solutions, suspensions, emulsions, elixirs, gels or capsules filled with the same, all for oral use, in the form of suppositories for rectal administration; or in the form of sterile injectable solutions for parenteral (including subcutaneous) use. Such pharmaceutical compositions and unit dosage forms thereof may comprise conventional ingredients in conventional proportions, with or without additional active compounds or principles, and such unit dosage forms may contain any suitable effective amount of the active ingredient commensurate with the intended daily dosage range to be employed.

[0156] For oral administration, the pharmaceutical composition can be in the form of, for example, a tablet, capsule, suspension or liquid. The pharmaceutical composition is preferably made in the form of a dosage unit containing a particular amount of the active ingredient. Examples of such dosage units are capsules, tablets, powders, granules or a suspension, with conventional additives such as lactose, mannitol, corn starch or potato starch; with binders such as crystalline cellulose, cellulose derivatives, acacia, corn starch or gelatine; with disintegrators such as corn starch, potato starch or sodium carboxymethyl-cellulose; and with lubricants such as talc or magnesium stearate. The active ingredient may also be administered by injection as a composition wherein, for example, saline, dextrose or water can be used as a suitable pharmaceutically acceptable carrier.

[0157] Compounds of the present invention or a solvate or physiologically functional derivative thereof can be used as active ingredients in pharmaceutical compositions, specifically as RUP25 receptor agonists. By the term "active ingredient" is defined in the context of a "pharmaceutical composition" and shall mean a component of a pharmaceutical

composition that provides the primary pharmacological effect, as opposed to an "inactive ingredient" which would generally be recognized as providing no pharmaceutical benefit.

[0158] The dose when using the compounds of the present invention can vary within wide limits, and as is customary and is known to the physician, it is to be tailored to the individual conditions in each individual case. It depends, for example, on the nature and severity of the illness to be treated, on the condition of the patient, on the compound employed or on whether an acute or chronic disease state is treated is conducted or on whether further active compounds are administered in addition to the compounds of the present invention. Representative doses of the present invention include, but not limited to, about 0.001 mg to about 5000 mg, about 0.001 to about 2500 mg, about 0.001 to about 1000 mg, 0.001 to about 500 mg, 0.001 mg to about 250 mg, about 0.001 mg to 100 mg, about 0.001 mg to about 50 mg, and about 0.001 mg to about 25 mg. Multiple doses can be administered during the day, especially when relatively large amounts are deemed to be needed, for example 2, 3 or 4, doses. Depending on the individual and as deemed appropriate from the patient's physician or care-giver it may be necessary to deviate upward or downward from the doses described herein.

[0159] The amount of active ingredient, or an active salt or derivative thereof, required for use in treatment will vary not only with the particular salt selected but also with the route of administration, the nature of the condition being treated and the age and condition of the patient and will ultimately be at the discretion of the attendant physician or clinician. In general, one skilled in the art understands how to extrapolate *in vivo* data obtained in a model system to another, for example, an animal model to a human. Typically, animal models include, but are not limited to, the rodents diabetes models as described in Example 1, *infra*; the mouse atherosclerosis model as described in Example 2, *infra*; or the *in vivo* animal atherosclerosis model as described in Example 5, *infra*. In some circumstances, these extrapolations may merely be based on the weight of the animal model in comparison to another, such as a mammal, preferably a human, however, more often, these extrapolations are not simply based on weight differences, but rather incorporate a variety of factors. Representative factors include the type, age, weight, sex, diet and medical condition of the patient, the severity of the disease, the route of administration, pharmacological considerations such as the activity, efficacy, pharmacokinetic and toxicology profiles of the particular compound employed, whether a drug delivery system is utilized, on whether an acute or chronic disease state is being treated is conducted or on whether further active compounds are administered in addition to the compounds of the Formula (I) and as part of a drug combination. The dosage regimen for treating a disease condition with the compounds and/or compositions of this invention is selected in accordance with a variety of factors, such as, those cited above. Thus, the actual dosage regimen employed may vary widely and therefore may deviate from a preferred dosage regimen and one skilled in the art will recognize that dosage and dosage regimen outside these typical ranges can be tested and, where appropriate, can be used in the methods of this invention.

[0160] The desired dose may conveniently be presented in a single dose or as divided doses administered at appropriate intervals, for example, as two, three, four or more sub-doses per day. The sub-dose itself can be further divided, e.g., into a number of discrete loosely spaced administrations. The daily dose can be divided, especially when relatively large amounts are administered as deemed appropriate, into several, for example 2, 3 or 4, part administrations. If appropriate, depending on individual behavior, it can be necessary to deviate upward or downward from the daily dose indicated.

[0161] The compounds of the present invention can be administered in a wide variety of oral and parenteral dosage forms. It will be obvious to those skilled in the art that the following dosage forms may comprise, as the active component, either a compound of the invention or a pharmaceutically acceptable salt of a compound of the invention.

[0162] For preparing pharmaceutical compositions from the compounds of the present invention, pharmaceutically acceptable carriers can be either solid or liquid. Solid form preparations include powders, tablets, pills, capsules, cachets, suppositories, and dispersible granules. A solid carrier can be one or more substances which may also act as diluents, flavouring agents, solubilizers, lubricants, suspending agents, binders, preservatives, tablet disintegrating agents, or an encapsulating material.

[0163] In powders, the carrier is a finely divided solid which is in a mixture with the finely divided active component.

[0164] In tablets, the active component is mixed with the carrier having the necessary binding capacity in suitable proportions and compacted to the desired shape and size.

[0165] The powders and tablets may contain varying percentage amounts of the active compound. A representative amount in a powder or tablet may contain from 0.5 to about 90 percent of the active compound; however, an artisan would know when amounts outside of this range are necessary. Suitable carriers for powders and tablets are magnesium carbonate, magnesium stearate, talc, sugar, lactose, pectin, dextrin, starch, gelatin, tragacanth, methylcellulose, sodium carboxymethylcellulose, a low melting wax, cocoa butter, and the like. The term "preparation" is intended to include the formulation of the active compound with encapsulating material as carrier providing a capsule in which the active component, with or without carriers, is surrounded by a carrier, which is thus in association with it. Similarly, cachets and lozenges are included. Tablets, powders, capsules, pills, cachets, and lozenges can be used as solid forms suitable for oral administration.

[0166] For preparing suppositories, a low melting wax, such as an admixture of fatty acid glycerides or cocoa butter,

is first melted and the active component is dispersed homogeneously therein, as by stirring. The molten homogeneous mixture is then poured into convenient sized molds, allowed to cool, and thereby to solidify.

[0167] Formulations suitable for vaginal administration can be presented as pessaries, tampons, creams, gels, pastes, foams or sprays containing in addition to the active ingredient such carriers as are known in the art to be appropriate.

[0168] Liquid form preparations include solutions, suspensions, and emulsions, for example, water or water-propylene glycol solutions. For example, parenteral injection liquid preparations can be formulated as solutions in aqueous polyethylene glycol solution. Injectable preparations, for example, sterile injectable aqueous or oleaginous suspensions can be formulated according to the known art using suitable dispersing or wetting agents and suspending agents. The sterile injectable preparation may also be a sterile injectable solution or suspension in a nontoxic parenterally acceptable diluent or solvent, for example, as a solution in 1,3-butanediol. Among the acceptable vehicles and solvents that can be employed are water, Ringer's solution, and isotonic sodium chloride solution. In addition, sterile, fixed oils are conventionally employed as a solvent or suspending medium. For this purpose any bland fixed oil can be employed including synthetic mono- or diglycerides. In addition, fatty acids such as oleic acid find use in the preparation of injectables.

[0169] The compounds according to the present invention may thus be formulated for parenteral administration (e.g. by injection, for example bolus injection or continuous infusion) and can be presented in unit dose form in ampoules, pre-filled syringes, small volume infusion or in multi-dose containers with an added preservative. The compositions may take such forms as suspensions, solutions, or emulsions in oily or aqueous vehicles, and may contain formulatory agents such as suspending, stabilizing and/or dispersing agents. Alternatively, the active ingredient can be in powder form, obtained by aseptic isolation of sterile solid or by lyophilization from solution, for constitution with a suitable vehicle, e.g. sterile, pyrogen-free water, before use.

[0170] Aqueous solutions suitable for oral use can be prepared by dissolving the active component in water and adding suitable colorants, flavours, stabilizing and thickening agents, as desired.

[0171] Aqueous suspensions suitable for oral use can be made by dispersing the finely divided active component in water with viscous material, such as natural or synthetic gums, resins, methylcellulose, sodium carboxymethylcellulose, or other well known suspending agents.

[0172] Also included are solid form preparations which are intended to be converted, shortly before use, to liquid form preparations for oral administration. Such liquid forms include solutions, suspensions, and emulsions. These preparations may contain, in addition to the active component, colorants, flavors, stabilizers, buffers, artificial and natural sweeteners, dispersants, thickeners, solubilizing agents, and the like.

[0173] For topical administration to the epidermis the compounds according to the invention can be formulated as ointments, creams or lotions, or as a transdermal patch.

[0174] Ointments and creams may, for example, be formulated with an aqueous or oily base with the addition of suitable thickening and/or gelling agents. Lotions can be formulated with an aqueous or oily base and will in general also contain one or more emulsifying agents, stabilizing agents, dispersing agents, suspending agents, thickening agents, or coloring agents.

[0175] Formulations suitable for topical administration in the mouth include lozenges comprising active agent in a flavored base, usually sucrose and acacia or tragacanth; pastilles comprising the active ingredient in an inert base such as gelatin and glycerin or sucrose and acacia; and mouthwashes comprising the active ingredient in a suitable liquid carrier.

[0176] Solutions or suspensions are applied directly to the nasal cavity by conventional means, for example with a dropper, pipette or spray. The formulations can be provided in single or multi-dose form. In the latter case of a dropper or pipette, this can be achieved by the patient administering an appropriate, predetermined volume of the solution or suspension. In the case of a spray, this can be achieved for example by means of a metering atomizing spray pump.

[0177] Administration to the respiratory tract may also be achieved by means of an aerosol formulation in which the active ingredient is provided in a pressurized pack with a suitable propellant. If the compounds of the Formula (I) or pharmaceutical compositions comprising them are administered as aerosols, for example as nasal aerosols or by inhalation, this can be carried out, for example, using a spray, a nebulizer, a pump nebulizer, an inhalation apparatus, a metered inhaler or a dry powder inhaler. Pharmaceutical forms for administration of the compounds of the Formula (I) as an aerosol can be prepared by processes well-known to the person skilled in the art. For their preparation, for example, solutions or dispersions of the compounds of the Formula (I) in water, water/alcohol mixtures or suitable saline solutions can be employed using customary additives, for example benzyl alcohol or other suitable preservatives, absorption enhancers for increasing the bioavailability, solubilizers, dispersants and others, and, if appropriate, customary propellants, for example include carbon dioxide, CFC's, such as, dichlorodifluoromethane, trichlorofluoromethane, or dichlorotetrafluoroethane; and the like. The aerosol may conveniently also contain a surfactant such as lecithin. The dose of drug can be controlled by provision of a metered valve.

[0178] In formulations intended for administration to the respiratory tract, including intranasal formulations, the compound will generally have a small particle size for example of the order of 10 microns or less. Such a particle size can be obtained by means known in the art, for example by micronization. When desired, formulations adapted to give

sustained release of the active ingredient can be employed.

[0179] Alternatively the active ingredients can be provided in the form of a dry powder, for example, a powder mix of the compound in a suitable powder base such as lactose, starch, starch derivatives such as hydroxypropylmethyl cellulose and polyvinylpyrrolidone (PVP). Conveniently the powder carrier will form a gel in the nasal cavity. The powder composition can be presented in unit dose form for example in capsules or cartridges of, e.g., gelatin, or blister packs from which the powder can be administered by means of an inhaler.

[0180] The pharmaceutical preparations are preferably in unit dosage forms. In such form, the preparation is subdivided into unit doses containing appropriate quantities of the active component. The unit dosage form can be a packaged preparation, the package containing discrete quantities of preparation, such as packaged tablets, capsules, and powders in vials or ampoules. Also, the unit dosage form can be a capsule, tablet, cachet, or lozenge itself, or it can be the appropriate number of any of these in packaged form.

[0181] Tablets or capsules for oral administration and liquids for intravenous administration are preferred compositions.

[0182] Compounds of the present invention can be converted to "pro-drugs." The term "pro-drugs" refers to compounds that have been modified with specific chemical groups known in the art and when administered into an individual these groups undergo biotransformation to give the parent compound. Pro-drugs can thus be viewed as compounds of the invention containing one or more specialized non-toxic protective groups used in a transient manner to alter or to eliminate a property of the compound. In general, the "pro-drug" approach is utilized to facilitate oral absorption. A thorough discussion is provided in T. Higuchi and V. Stella, "Pro-drugs as Novel Delivery Systems," Vol. 14 of the A.C.S. Symposium Series, and in Bioreversible Carriers in Drug Design, ed. Edward B. Roche, American Pharmaceutical Association and Pergamon Press, 1987, both of which are hereby incorporated by reference in their entirety.

Combination Therapy:

[0183] While the compounds of the present invention can be administered as the sole active pharmaceutical agent (i.e., mono-therapy), they can also be used in combination with other pharmaceutical agents (i.e., combination-therapy), such as, for the treatment of the diseases/conditions/disorders described herein. Therefore, also described herein are methods of treatment of metabolic related diseases comprising administering to an individual in need of such treatment a therapeutically-effective amount of a compound of the present invention in combination with one or more additional pharmaceutical agent as described herein.

[0184] Suitable pharmaceutical agents that can be used in combination with the compounds of the present invention include anti-obesity agents such as apolipoprotein-B secretion/microsomal triglyceride transfer protein (apo-B/MTP) inhibitors, MCR-4 agonists, cholecystokinin-A (CCK-A) agonists, serotonin and norepinephrine reuptake inhibitors (for example, sibutramine), sympathomimetic agents, β_3 adrenergic receptor agonists, dopamine agonists (for example, bromocriptine), melanocyte-stimulating hormone receptor analogs, cannabinoid 1 receptor antagonists (for example, SR 141716: *N*-(piperidin-1-yl)-5-(4-chlorophenyl)-1-(2,4-dichlorophenyl)-4-methyl-1*H*-pyrazole-3-carboxamide), melanin concentrating hormone antagonists, leptons (the OB protein), leptin analogues, leptin receptor agonists, galanin antagonists, lipase inhibitors (such as tetrahydrofstatin, i.e., Orlistat), anorectic agents (such as a bombesin agonist), Neuropeptide-Y antagonists, thyromimetic agents, dehydroepiandrosterone or an analogue thereof, glucocorticoid receptor agonists or antagonists, orexin receptor antagonists, urocortin binding protein antagonists, glucagon-like peptide-1 receptor agonists, ciliary neurotrophic factors (such as Axokine[™] available from Regeneron Pharmaceuticals, Inc., Tarrytown, NY and Procter & Gamble Company, Cincinnati, OH), human agouti-related proteins (AGRP), ghrelin receptor antagonists, histamine 3 receptor antagonists or reverse agonists, neuromedin U receptor agonists, noradrenergic anorectic agents (for example, phentermine, mazindol and the like) and appetite suppressants (for example, bupropion).

[0185] Other anti-obesity agents, including the agents set forth *infra*, are well known, or will be readily apparent in light of the instant disclosure, to one of ordinary skill in the art.

[0186] In some embodiments, the anti-obesity agents are selected from the group consisting of orlistat, sibutramine, bromocriptine, ephedrine, leptin, and pseudoephedrine. In a further embodiment, compounds of the present invention and combination therapies are administered in conjunction with exercise and/or a sensible diet.

[0187] It is understood that the scope of combination-therapy of the compounds of the present invention with other anti-obesity agents, anorectic agents, appetite suppressant and related agents is not limited to those listed above, but includes in principle any combination with any pharmaceutical agent or pharmaceutical composition useful for the treatment of overweight and obese individuals.

[0188] Other suitable pharmaceutical agents, in addition to anti-obesity agents, that can be used in combination with the compounds of the present invention include agents useful in the treatment of concomitant disorders. Treatment of such disorders include the use of one or more pharmaceutical agents known in the art that belong to the classes of drugs referred to, but not limited to, the following: sulfonylureas, meglitinides, biguanides, α -glucosidase inhibitors, peroxisome proliferators-activated receptor- γ (i.e., PPAR- γ) agonists, insulin, insulin analogues, HMG-CoA reductase inhibitors, cholesterol-lowering drugs (for example, fibrates that include: fenofibrate, bezafibrate, gemfibrozil, clofibrate

and the like; bile acid sequestrants which include: cholestyramine, colestipol and the like; and niacin), antiplatelet agents (for example, aspirin and adenosine diphosphate receptor antagonists that include: clopidogrel, ticlopidine and the like), angiotensin-converting enzyme inhibitors, angiotensin II receptor antagonists and adiponectin. In accordance to one aspect of the present invention, a compound of the present can be used in combination with a pharmaceutical agent or agents belonging to one or more of the classes of drugs cited herein.

[0189] It is understood that the scope of combination-therapy of the compounds of the present invention with other pharmaceutical agents is not limited to those listed herein, *supra* or *infra*, but includes in principle any combination with any pharmaceutical agent or pharmaceutical composition useful for the treatment of diseases, conditions or disorders that are linked to metabolic-related disorders.

[0190] Also described herein are methods of treatment of a disease, disorder or condition as described herein comprising administering to an individual in need of such treatment a therapeutically effect amount or dose of a compound of the present invention in combination with at least one pharmaceutical agent selected from the group consisting of: sulfonylureas, meglitinides, biguanides, α -glucosidase inhibitors, peroxisome proliferators-activated receptor- γ (i.e., PPAR- γ) agonists, insulin, insulin analogues, HMG-CoA reductase inhibitors, cholesterol-lowering drugs (for example, fibrates that include: fenofibrate, bezafibrate, gemfibrozil, clofibrate and the like; bile acid sequestrants which include: cholestyramine, colestipol and the like; and niacin), antiplatelet agents (for example, aspirin and adenosine diphosphate receptor antagonists that include: clopidogrel, ticlopidine and the like), angiotensin-converting enzyme inhibitors, angiotensin II receptor antagonists and adiponectin. In some embodiments, the pharmaceutical composition further comprises one or more agents selected from the group consisting of α -glucosidase inhibitor, aldose reductase inhibitor, biguanide, HMG-CoA reductase inhibitor, squalene synthesis inhibitor, fibrates, LDL catabolism enhancer, angiotensin converting enzyme inhibitor, insulin secretion enhancer and thiazolidinedione.

[0191] One aspect of the present invention encompasses pharmaceutical compositions comprising at least one compound according to Formula (I), as described herein. In some embodiments, the pharmaceutical composition further comprises one or more agents selected from the group consisting of, for example, α -glucosidase inhibitor, aldose reductase inhibitor, biguanide, HMG-CoA reductase inhibitor, squalene synthesis inhibitor, fibrates, LDL catabolism enhancer, angiotensin converting enzyme inhibitor, insulin secretion enhancer and thiazolidinedione.

[0192] Suitable pharmaceutical agents that can be used in conjunction with compounds of the present invention include α -glucosidase inhibitors. α -Glucosidase inhibitors belong to the class of drugs which competitively inhibit digestive enzymes such as α -amylase, maltase, α -dextrinase, sucrase, etc. in the pancreas and or small intestine. The reversible inhibition by α -glucosidase inhibitors retard, diminish or otherwise reduce blood glucose levels by delaying the digestion of starch and sugars. Some representative examples of α -glucosidase inhibitors include acarbose, N-(1,3-dihydroxy-2-propyl)valiolamine (generic name; voglibase), miglitol, and α -glucosidase inhibitors known in the art.

[0193] Suitable pharmaceutical agents that can be used in conjunction with compounds of the present invention include sulfonylureas. The sulfonylureas (SU) are drugs which promote secretion of insulin from pancreatic β cells by transmitting signals of insulin secretion via SU receptors in the cell membranes. Examples of the sulfonylureas include glyburide, glipizide, glimepiride and other sulfonylureas known in the art.

[0194] Suitable pharmaceutical agents that can be used in conjunction with compounds of the present invention include the meglitinides. The meglitinides are benzolic acid derivatives represent a novel class of insulin secretagogues. These agents target postprandial hyperglycemia and show comparable efficacy to sulfonylureas in reducing HbA_{1c}. Examples of meglitinides include repaglinide, nateglinide and other meglitinides known in the art.

[0195] Suitable pharmaceutical agents that can be used in conjunction with compounds of the present invention include the biguanides. The biguanides represent a class of drugs that stimulate anaerobic glycolysis, increase the sensitivity to insulin in the peripheral tissues, inhibit glucose absorption from the intestine, suppress of hepatic gluconeogenesis, and inhibit fatty acid oxidation. Examples of biguanides include phenformin, metformin, buformin, and biguanides known in the art.

[0196] Suitable pharmaceutical agents that can be used in conjunction with compounds of the present invention include the α -glucosidase inhibitors. The α -glucosidase inhibitors competitively inhibit digestive enzymes such as α -amylase, maltase, α -dextrinase, sucrase, etc. in the pancreas and or small intestine. The reversible inhibition by α -glucosidase inhibitors retard, diminish or otherwise reduce blood glucose levels by delaying the digestion of starch and sugars. Examples of α -glucosidase inhibitors include acarbose, N-(1,3-dihydroxy-2-propyl)valiolamine (generic name; voglibase), miglitol, and α -glucosidase inhibitors known in the art.

[0197] Suitable pharmaceutical agents that can be used in conjunction with compounds of the present invention include the peroxisome proliferators-activated receptor- γ (i.e., PPAR- γ) agonists. The peroxisome proliferators-activated receptor- γ agonists represent a class of compounds that activates the nuclear receptor PPAR- γ and therefore regulate the transcription of insulin-responsive genes involved in the control of glucose production, transport and utilization. Agents in the class also facilitate the regulation of fatty acid metabolism. Examples of PPAR- γ agonists include rosiglitazone, pioglitazone, tesaglitazar, netoglitazone, GW-408544, GW-501516 and PPAR- γ agonists known in the art.

[0198] Suitable pharmaceutical agents that can be used in conjunction with compounds of the present invention include

the HMG-CoA reductase inhibitors. The HMG-CoA reductase inhibitors are agents also referred to as Statin compounds that belong to a class of drugs that lower blood cholesterol levels by inhibiting hydroxymethylglutaryl CoA (HMG-CoA) reductase. HMG-CoA reductase is the rate-limiting enzyme in cholesterol biosynthesis. The statins lower serum LDL concentrations by upregulating the activity of LDL receptors and are responsible for clearing LDL from the blood. Some representative examples the statin compounds include rosuvastatin, pravastatin and its sodium salt, simvastatin, lovastatin, atorvastatin, fluvastatin, cerivastatin, pitavastatin, BMS's "superstatin", and HMG-CoA reductase inhibitors known in the art.

[0199] Suitable pharmaceutical agents that can be used in conjunction with compounds of the present invention include the angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitors. The angiotensin converting enzyme inhibitors belong to the class of drugs that partially lower blood glucose levels as well as lowering blood pressure by inhibiting angiotensin converting enzymes. Examples of the angiotensin converting enzyme inhibitors include captopril, enalapril, alacepril, delapril; ramipril, lisinopril, imidapril, benazepril, ceronapril, cilazapril, enalaprilat, fosinopril, moxalopril, perindopril, quinapril, spirapril, temocapril,trandolapril, and angiotensin converting enzyme inhibitors known in the art.

[0200] Suitable pharmaceutical agents that can be used in conjunction with compounds of the present invention include the angiotensin II receptor antagonists. Angiotensin II receptor antagonists target the angiotensin II receptor subtype I (i.e., AT1) and demonstrate a beneficial effect on hypertension. Examples of angiotensin II receptor antagonists include losartan (and the potassium salt form), and angiotensin II receptor antagonists known in the art.

[0201] Other treatments for one or more of the diseases cited herein include the use of one or more pharmaceutical agents known in the art that belong to the classes of drugs referred to, but not limited to, the following: amylin agonists (for example, pramlintide), insulin secretagogues (for example, GLP-1 agonists; exendin-4; insulinotropln (NN221 1); dipeptyl peptidase inhibitors (for example, NVP-DPP-726), acyl CoA cholesterol acetyltransferase inhibitors (for example, Ezetimibe, effucimibe, and like compounds), cholesterol absorption inhibitors (for example, ezetimibe, pamaqueside and like compounds), cholesterol ester transfer protein inhibitors (for example, CP-529414, JTT-705, CETI-1, torcetrapib and like compounds), microsomal triglyceride transfer protein inhibitors (for example, implitapide, and like compounds), cholesterol modulators (for example, NO-1886, and like compounds), bile acid modulators (for example, GT103-279 and like compounds) and squalene synthase inhibitors.

[0202] Squalene synthase inhibitors belong to a class of drugs that lower blood cholesterol levels by inhibiting synthesis of squalene. Examples of the squalene synthase inhibitors include (S)- α -[Bis[2,2-dimethyl-1-oxopropoxy)methoxy] phosphiny]-3-phenoxybenzenesulfonic acid, mono potassium salt (BMS-188494) and squalene synthase inhibitors known in the art.

[0203] As described herein, the combination can be used by mixing the respective active components either all together or independently with a pharmaceutically acceptable carrier, excipient, binder, diluent, etc., as described herein above, and administering the mixture or mixtures either orally or non-orally as a pharmaceutical composition. When a compound or a mixture of compounds of Formula (I) are administered as a combination therapy with another active compound the therapeutic agents can be formulated as separate pharmaceutical compositions given at the same time or at different times, or the therapeutic agents can be given as a single composition.

[0204] As described herein, the combination of a compound of the present invention and pharmaceutical agent can be prepared by mixing the respective active components either all together or independently with a pharmaceutically acceptable carrier, excipient, binder, diluent, etc., as described herein, and administering the mixture or mixtures either orally or non-orally as a pharmaceutical composition. When a compound or a mixture of compounds of Formula (I) are administered as a combination therapy with another active compound the therapeutic agents can be formulated as a separate pharmaceutical compositions given at the same time or at different times, or the therapeutic agents can be given as a single composition.

Labeled Compounds and Assay Methods

[0205] Another object of the present invention relates to radio-labeled compounds of Formula (I) that are useful not only in radio-imaging but also in assays, both in vitro and in vivo, for localizing and quantitating RUP25 in tissue samples, including human, and for identifying RUP25 ligands by inhibition binding of a radio-labeled compound. It is a further object of this invention to include novel RUP25 assays of which comprise such radio-labeled compounds.

[0206] The present invention embraces isotopically-labeled compounds of Formula (I) and any subgenera herein, such as but not limited to, Formulae (Ia) to (Iz); and (IIa) to (IId). An "isotopically" or "radio-labeled" compounds are those which are identical to compounds disclosed herein, but for the fact that one or more atoms are replaced or substituted by an atom having an atomic mass or mass number different from the atomic mass or mass number typically found in nature (i.e., naturally occurring). Suitable radionuclides that can be incorporated in compounds of the present invention include but are not limited to ^2H (also written as D for deuterium), ^3H (also written as T for tritium), ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{13}N , ^{15}N , ^{15}O , ^{17}O , ^{18}O , ^{18}F , ^{35}S , ^{36}S , ^{36}Cl , ^{82}Br , ^{76}Br , ^{78}Br , ^{77}Br , ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I and ^{131}I . The radionuclide that is incorporated in the instant radio-labeled compounds will depend on the specific application of that radio-

287

labeled compound. For example, for *in vitro* RUP25 labeling and competition assays, compounds that incorporate ^3H , ^{14}C , ^{82}Br , ^{125}I , ^{131}I , ^{35}S or will generally be most useful. For radio-imaging applications ^{11}C , ^{18}F , ^{125}I , ^{123}I , ^{124}I , ^{131}I , ^{75}Br , ^{76}Br or ^{77}Br will generally be most useful.

[0207] It is understood that a "radio-labeled" or "labeled compound" is a compound of Formula (I) that has incorporated at least one radionuclide; in some embodiments the radionuclide is selected from the group consisting of ^3H , ^{14}C , ^{125}I , ^{35}S and ^{82}Br .

[0208] Certain isotopically-labeled compounds of the present invention are useful in compound and/or substrate tissue distribution assays. In some embodiments the radionuclide ^3H and/or ^{14}C isotopes are useful in these studies. Further, substitution with heavier isotopes such as deuterium (i.e., ^2H) may afford certain therapeutic advantages resulting from greater metabolic stability (e.g., increased *in vivo* half-life or reduced dosage requirements) and hence can be preferred in some circumstances. Isotopically labeled compounds of the present invention can generally be prepared by following procedures analogous to those disclosed in the Schemes *supra* and Examples *infra*, by substituting an isotopically labeled reagent for a non-isotopically labeled reagent. Other synthetic methods that are useful are discussed *infra*.

Moreover, it should be understood that all of the atoms represented in the compounds of the invention can be either the most commonly occurring isotope of such atoms or the more scarce radio-isotope or nonradioactive isotope.

[0209] Synthetic methods for incorporating radio-isotopes into organic compounds are applicable to compounds of the invention and are well known in the art. These synthetic methods, for example, incorporating activity levels of tritium into target molecules, and are as follows:

A. Catalytic Reduction with Tritium Gas - This procedure normally yields high specific activity products and requires halogenated or unsaturated precursors.

B. Reduction with Sodium Borohydride [^3H] - This procedure is rather inexpensive and requires precursors containing reducible functional groups such as aldehydes, ketones, lactones, esters, and the like.

C. Reduction with Lithium Aluminum Hydride [^3H] - This procedure offers products at almost theoretical specific activities. It also requires precursors containing reducible functional groups such as aldehydes, ketones, lactones, esters, and the like.

D. Tritium Gas Exposure Labeling - This procedure involves exposing precursors containing exchangeable protons to tritium gas in the presence of a suitable catalyst.

E. N-Methylation using Methyl Iodide [^3H] - This procedure is usually employed to prepare O-methyl or N-methyl (^3H) products by treating appropriate precursors with high specific activity methyl iodide (^3H). This method in general allows for higher specific activity, such as for example, about 70-90 Ci/mmol.

[0210] Synthetic methods for incorporating activity levels of ^{125}I into target molecules include:

A. Sandmeyer and like reactions - This procedure transforms an aryl or heteroaryl amine into a diazonium salt, such as a tetrafluoroborate salt, and subsequently to ^{125}I labeled compound using Na^{125}I . A represented procedure was reported by Zhu, D.-G. and co-workers in *J. Org. Chem.* 2002, 67, 943-948.

B. Ortho ^{125}I iodination of phenols - This procedure allows for the incorporation of ^{125}I at the ortho position of a phenol as reported by Collier, T. L. and co-workers in *J. Labeled Compd Radiopharm.* 1999, 42, S284-S286.

C. Aryl and heteroaryl bromide exchange with ^{125}I - This method is generally a two step process. The first step is the conversion of the aryl or heteroaryl bromide to the corresponding tri-alkyltin intermediate using for example, a Pd catalyzed reaction [i.e. $\text{Pd}(\text{Ph}_3\text{P})_4$] or through an aryl or heteroaryl lithium, in the presence of a tri-alkyltinhalide or hexaalkyliditin [e.g., $(\text{CH}_3)_3\text{SnSn}(\text{CH}_3)_3$]. A represented procedure was reported by Bas, M.-D. and co-workers in *J. Labeled Compd Radiopharm.* 2001, 44, S280-S282.

[0211] A radio-labeled RUP25 compound of Formula (I) can be used in a screening assay to identify/evaluate compounds. In general terms, a newly synthesized or identified compound (i.e., test compound) can be evaluated for its ability to reduce binding of the "radio-labeled compound of Formula (I)" to the RUP25 receptor. Accordingly, the ability of a test compound to compete with the "radio-labeled compound of Formula (I)" for the binding to the RUP25 receptor directly correlates to its binding affinity.

[0212] The labeled compounds of the present invention bind to the RUP25 receptor. In one embodiment the labeled compound has an IC_{50} less than about 500 μM , in another embodiment the labeled compound has an IC_{50} less than about 100 μM , in yet another embodiment the labeled compound has an IC_{50} less than about 10 μM , in yet another embodiment the labeled compound has an IC_{50} less than about 1 μM , and in still yet another embodiment the labeled inhibitor has an IC_{50} less than about 0.1 μM .

Other uses of the disclosed receptors and methods will become apparent to those in the art based upon, *inter alia*, a review of this disclosure.

288

EXAMPLES

[0213] The following Examples are provided for illustrative purposes.

[0214] One of ordinary skill in the art would be able to design equivalent assays and methods based on the disclosure herein;

Example**RODENT DIABETES MODELS**

[0215] Rodent models of type 2 diabetes associated with obesity and insulin resistance have been developed. Genetic models such as db/db and ob/ob [see Diabetes (1982) 31:1-6] in mice and fa/fa in Zucker rats have been developed for understanding the pathophysiology of disease and for testing candidate therapeutic compounds [Diabetes (1983) 32: 830-838; Annu Rep Sankyo Res Lab (1994) 48:1-57]. The homozygous animals, C57 BL/KsJ-db/db mice developed by Jackson Laboratory are obese, hyperglycemic, hyperinsulinemic and insulin resistant [J Clin Invest (1990) 85:982-987], whereas heterozygotes are lean and normoglycemic. In the db/db model, mice progressively develop insulinopenia with age, a feature commonly observed in late stages of human type 2 diabetes when sugar levels are insufficiently controlled. Since this model resembles that of human type 2 diabetes, the compounds of the present invention are tested for activities including, but not limited to, lowering of plasma glucose and triglycerides. Zucker (fa/fa) rats are severely obese, hyperinsulinemic, and insulin resistant (Coleman, Diabetes (1982) 31:1; E Shafir in Diabetes Mellitus, H Rifkin and D Porte, Jr, Eds [Elsevier Science Publishing Co, New York, ed. 4, (1990), pp. 299-340]), and the fa/fa mutation may be the rat equivalent of the murine db mutation [Friedman et al, Cell (1992) 69:217-220; Truett et al, Proc Natl Acad Sci USA (1991) 88:7808]. Tubby (tub/tub) mice are characterized by obesity, moderate insulin resistance and hyperinsulinemia without significant hyperglycemia (Coleman et al, Heredity (1990) 81:424).

[0216] The present invention encompasses compounds of the invention for reducing the insulin resistance and hyperglycemia in any or all of the above rodent diabetes models, in humans with type 2 diabetes or other preferred metabolic-related disorders or disorders of lipid metabolism described previously, or in models based on other mammals. Plasma glucose and insulin levels will be tested, as well as other factors including, but not limited to, plasma free fatty acids and triglycerides.

In Vivo Assay for Anti-Hyperglycemic Activity of Compounds of the Invention

[0217] Genetically altered obese diabetic mice (db/db) (male, 7-9 weeks old) are housed (7-9 mice/cage) under standard laboratory conditions at 22°C and 50% relative humidity, and maintained on a diet of Purina rodent chow and water *ad libitum*. Prior to treatment, blood is collected from the tail vein of each animal and blood glucose concentrations are determined using One Touch Basic Glucose Monitor System (Lifescan). Mice that have plasma glucose levels between 250 to 500 mg/dl are used. Each treatment group consists of seven mice that are distributed so that the mean glucose levels are equivalent in each group at the start of the study. db/db mice are dosed by micro-osmotic pumps, inserted using isoflurane anesthesia, to provide compounds of the invention, saline, or an irrelevant compound to the mice subcutaneously (s.c.). Blood is sampled from the tail vein at intervals thereafter and analyzed for blood glucose concentrations. Significant differences between groups (comparing compounds of the invention to saline-treated) are evaluated using Student t-test.

Example 2**MOUSE ATHEROSCLEROSIS MODEL**

[0218] Adiponectin-deficient mice generated through knocking out the adiponectin gene have been shown to be predisposed to atherosclerosis and to be insulin resistant. The mice are also a suitable model for ischemic heart disease [Matsuda, M et al. J Biol Chem (2002) July, and references cited therein, the disclosures of which are incorporated herein by reference in their entirety].

[0219] Adiponectin knockout mice are housed (7-9 mice/cage) under standard laboratory conditions at 22°C and 50% relative humidity. The mice are dosed by micro-osmotic pumps, inserted using isoflurane anesthesia, to provide compounds of the invention, saline, or an irrelevant compound to the mice subcutaneously (s.c.). Neointimal thickening and ischemic heart disease are determined for different groups of mice sacrificed at different time intervals. Significant differences between groups (comparing compounds of the invention to saline-treated) are evaluated using Student t-test.

289

Example 3

In Vitro Biological Activity

- 5 [0220] A modified Flash Plate™ Adenylyl Cyclase kit (New England Nuclear; Cat. No. SMP004A) was utilized for direct identification of candidate compounds as agonists to hRUP25 in accordance with the following protocol. The term hRUP25 includes the human sequences found in GenBank Accession No. NM_177551 for the nucleotide and GenBank Accession No. NP_808219 for the polypeptide, and naturally-occurring allelic variants, mammalian orthologs, and re-combinant mutants thereof.
- 10 [0221] CHO cells stably transfected with an expression vector encoding hRUP25 and cultured under condition per-missive for cell surface expression of the encoded hRUP25 receptor were harvested from flasks via non-enzymatic means. The cells were washed in PBS and resuspended in the manufacturer's Assay Buffer. Live cells were counted using a hemacytometer and Trypan blue exclusion, and the cell concentration was adjusted to 2×10^6 cells/ml. cAMP standards and Detection Buffer (comprising 2 μ Cl of tracer [^{125} I]-cAMP (100 μ l) to 11 ml Detection Buffer) were prepared
- 15 and maintained in accordance with the manufacturer's instructions. Candidate compounds identified as per above (if frozen, thawed at room temperature) were added to their respective wells (preferably wells of a 96-well plate) at increasing concentrations (3 μ l/well; 12 μ M final assay concentration). To these wells, 100,000 cells in 50 μ l of Assay Buffer were added and the mixture was then incubated for 30 minutes at room temperature, with gentle shaking. Following the incubation, 100 μ l of Detection Buffer was added to each well, followed by incubation for 2-24 hours. Plates were counted
- 20 in a Wallac MicroBeta™ plate reader using "Prot. #31" (as per manufacturer instructions).
- [0222] Certain compounds of the invention have an EC₅₀ in the cAMP Whole Cell method of about 25 μ M or less.

Example 4: In vitro Biological Activity

- 25 **³⁵S-GTP- γ S binding assay:**
- [0223] Membranes prepared from Chinese Hamster Ovary (CHO)-K1 cells stably expressing the nicotinic receptor or vector control (7 μ g/assay) were diluted in assay buffer (100 mM HEPES, 100 mM NaCl and 10 mM MgCl₂, pH 7.4) in Wallac Scintistrip plates and pre-incubated with test compounds diluted in assay buffer containing 40 μ M GDP (final [GDP] was 10 μ M) for ~ 10 minutes before addition of ³⁵S-GTP- γ S to 0.3 nM. To avoid potential compound precipitation, all compounds were first prepared in 100% DMSO and then diluted with assay buffer resulting in a final concentration of 3% DMSO in the assay. Binding was allowed to proceed for one hour before centrifuging the plates at 4000 rpm for 15 minutes at room temperature and subsequent counting in a TopCount scintillation counter. Non-linear regression analysis of the binding curves was performed in GraphPad Prism.

Membrane Preparation

Materials:

- 40 [0224]
- | | |
|------------------------------|---|
| CHO-K1 cell culture medium: | F-12 Kaighn's Modified Cell Culture Medium with 10% FBS, 2 mM L-Glutamine, 1 mM Sodium Pyruvate and 400 μ g/ml G418 |
| Membrane Scrape Buffer: | 20 mM HEPES |
| 45 | 10 mM EDTA, pH 7.4 |
| Membrane Wash Buffer: | 20 mM HEPES |
| | 0.1 mM EDTA, pH 7.4 |
| Protease Inhibitor Cocktail: | P-8340, (Sigma, St. Louis, MO) |

Procedure:

- 50 [0225]
- 65
- o Aspirate cell culture media off the 15 cm² plates, rinse with 5 mL cold PBS and aspirate.
 - o Add 5 mL Membrane Scrape Buffer and scrape cells. Transfer scrape into 50 mL centrifuge tube. Add 50 μ L Protease Inhibitor Cocktail.
 - o Spin at 20,000 rpm for 17 minutes at 4°C.

- o Aspirate off the supernatant and resuspend pellet in 30 mL Membrane Wash Buffer. Add 50 μ L Protease Inhibitor Cocktail.
- o Spin at 20,000 rpm for 17 minutes at 4°C.
- o Aspirate the supernatant off the membrane pellet. The pellet may be frozen at -80°C for later use or it can be used immediately.

Assay

Materials:

[0226]

- Guanosine 5'-diphosphate sodium salt (GDP, Sigma-Aldrich Catalog #87127)
- Guanosine 5'-[^{35} S] thiotriphosphate, triethylammonium salt ([^{35} S]GTP γ S, Amersham Biosciences Catalog #SJ1320, ~1000Ci/mmol)
- 96 well Scintiplates (Perkin-Elmer #1450-501)
- Binding Buffer: 20 mM HEPES, pH 7.4
- 100 mM NaCl
- 10 mM MgCl₂
- GDP Buffer: binding buffer plus GDP, ranging from 0.4 to 40 μ M, make fresh before assay

Procedure:

[0227] (total assay volume = 100 μ L/well)

- 25 μ L GDP buffer with or without compounds (final GDP 10 μ M - so use 40 μ M stock)
- 50 μ L membrane in binding buffer (0.4mg protein/mL)
- 25 μ L [^{35} S]GTP γ S in binding buffer. This is made by adding 5 μ L [^{35} S]GTP γ S stock into 10mL binding buffer (This buffer has no GDP)

- o Thaw compound plates to be screened (daughter plates with 5 μ L compound @ 2mM in 100% DMSO)
- o Dilute the 2 mM compounds 1:50 with 245 μ L GDP buffer to 40 μ M in 2% DMSO. Thaw frozen membrane pellet on ice
- o Homogenize membranes briefly until in suspension using a POLYTRON PT3100 (probe PT-DA 3007/2 at setting of 7000 rpm). Determine the membrane protein concentration by Bradford assay. Dilute membrane to a protein concentrations of 0.40 mg/ml in Binding Buffer. (Note: the final assay concentration is 20 μ g/well).
- o Add 25 μ L compounds in GDP buffer per well to Scintiplate.
- o Add 50 μ L of membranes per well to Scintiplate.
- o Pre-incubate for 5-10 minutes at room temperature.
- o Add 25 μ L of diluted [^{35} S]GTP γ S. Incubate on shaker (Lab-Line model #1314, shake at setting of 4) for 60 minutes at room temperature.
- o Assay is stopped by spinning plates sealed with plate covers at 2500 rpm for 20 minutes at 22° C
- o Read on TopCount NXT scintillation counter - 35S protocol.

[0228] Certain compounds of the invention have an EC₅₀ in the functional *in vitro* GTP γ S binding assay within the range of about 10-100 μ M. More advantageous compounds of the invention have an EC₅₀ value in this assay within the range of about 1-10 μ M. Still more advantageous compounds have an EC₅₀ value in this assay of less than about 1 μ M.

Example 5**In Vivo Animal Model**

5 [0229] One utility of the compound of the present invention as a medical agent in the prophylaxis and treatment of a high total cholesterol/HDL-cholesterol ratio and conditions relating thereto is demonstrated by the activity of the compound in lowering the ratio of total cholesterol to HDL-cholesterol, in elevating HDL-cholesterol, or in protection from atherosclerosis in an *in vivo* pig model. Pigs are used as an animal model because they reflect human physiology, especially lipid metabolism, more closely than most other animal models. An illustrative *in vivo* pig model not intended to be limiting is presented here.

10 [0230] Yorkshire albino pigs (body weight 25.5 ± 4 kg) are fed a saturated fatty acid rich and cholesterol rich (SFA-CHO) diet during 50 days (1 kg chow 35 kg^{-1} pig weight), composed of standard chow supplemented with 2% cholesterol and 20% beef tallow [Royo T et al., *European Journal of Clinical Investigation* (2000) 30:843-52; which disclosure is hereby incorporated by reference in its entirety]. Saturated to unsaturated fatty acid ratio is modified from 0.6 in normal pig chow to 1.12 in the SFA-CHO diet. Animals are divided into two groups, one group ($n = 8$) fed with the SFA-CHO diet and treated with placebo and one group ($n = 8$) fed with the SFA-CHO diet and treated with the compound (3.0 mg kg^{-1}). Control animals are fed a standard chow for a period of 50 days. Blood samples are collected at baseline (2 days after the reception of the animals), and 50 days after the initiation of the diet. Blood lipids are analyzed. The animals are sacrificed and necropsied.

20 [0231] Alternatively, the foregoing analysis comprises a plurality of groups each treated with a different dose of the compound. Preferred said doses are selected from the group consisting of: 0.1 mg kg^{-1} , 0.3 mg kg^{-1} , 1.0 mg kg^{-1} , 3.0 mg kg^{-1} , 10 mg kg^{-1} , 30 mg kg^{-1} and 100 mg kg^{-1} . Alternatively, the foregoing analysis is carried out at a plurality of timepoints. Preferred said timepoints are selected from the group consisting of 10 weeks, 20 weeks, 30 weeks, 40 weeks, and 50 weeks.

HDL-Cholesterol

25 [0232] Blood is collected in trisodium citrate (3.8%, 1:10). Plasma is obtained after centrifugation (1200 g 15 min) and immediately processed. Total cholesterol, HDL-cholesterol, and LDL-cholesterol are measured using the automatic analyzer Kodak Ektachem DT System (Eastman Kodak Company, Rochester, NY, USA). Samples with value parameters above the range are diluted with the solution supplied by the manufacturer and then re-analyzed. The total cholesterol/HDL-cholesterol ratio is determined. Comparison is made of the level of HDL-cholesterol between groups. Comparison is made of the total cholesterol/HDL-cholesterol ratio between groups.

30 [0233] Elevation of HDL-cholesterol or reduction of the total cholesterol/HDL-cholesterol ratio on administration of the compound is taken as indicative of the compound having the aforesaid utility.

Atherosclerosis

35 [0234] The thoracic and abdominal aortas are removed intact, opened longitudinally along the ventral surface, and fixed in neutral-buffered formalin after excision of samples from standard sites in the thoracic and abdominal aorta for histological examination and lipid composition and synthesis studies. After fixation, the whole aortas are stained with Sudan IV and pinned out flat, and digital images are obtained with a TV camera connected to a computerized image analysis system (Image Pro Plus; Media Cybernetics, Silver Spring, MD) to determine the percentage of aortic surface involved with atherosclerotic lesions [Gerrity RG et al., *Diabetes* (2001) 50:1854-65; Cornhill JF et al., *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* (1985) 5:415-28; which disclosures are hereby incorporated by reference in their entirety]. Comparison is made between groups of the percentage of aortic surface involved with atherosclerotic lesions.

40 [0235] Reduction of the percentage of aortic surface involved with atherosclerotic lesions on administration of the compound is taken as indicative of the compound having the aforesaid utility.

Example 6**Receptor Binding Assay**

45 [0236] In addition to the methods described herein, another means for evaluating a test compound is by determining binding affinities to the RUP25 receptor. This type of assay generally requires a radiolabelled ligand to the RUP25 receptor. Absent the use of known ligands for the RUP25 receptor and radiolabels thereof, compounds of Formula (I) can be labelled with a radioisotope and used in an assay for evaluating the affinity of a test compound to the RUP25 receptor.

[0237] A radiolabelled RUP25 compound of Formula (I) can be used in a screening assay to identify/evaluate compounds. In general terms, a newly synthesized or identified compound (i.e., test compound) can be evaluated for its ability to reduce binding of the "radiolabelled compound of Formula (I)" to the RUP25 receptor. Accordingly, the ability to compete with the "radiolabelled compound of Formula (I)" or Radiolabelled RUP25 Ligand for the binding to the RUP25 receptor directly correlates to its binding affinity of the test compound to the RUP25 receptor.

ASSAY PROTOCOL FOR DETERMINING RECEPTOR BINDING FOR RUP25:

A. RUP25 RECEPTOR PREPARATION

[0238] 293 cells (human kidney, ATCC), transiently transfected with 10 ug human RUP25 receptor and 80 ul Lipofectamine (per 15-cm dish), are grown in the dish for 24 hours (75% confluency) with a media change and removed with 10 ml/dish of Hepes-EDTA buffer (20mM Hepes + 10 mM EDTA, pH 7.4). The cells are centrifuged in a Beckman Coulter centrifuge for 20 minutes, 17,000 rpm (JA-25.50 rotor). Subsequently, the pellet is resuspended in 20 mM Hepes + 1 mM EDTA, pH 7.4 and homogenized with a 50- ml Dounce homogenizer and again centrifuged. After removing the supernatant, the pellets are stored at -80°C, until used in binding assay. When used in the assay, membranes are thawed on ice for 20 minutes and then 10 mL of incubation buffer (20 mM Hepes, 1 mM MgCl₂, 100 mM NaCl, pH 7.4) added. The membranes are vortexed to resuspend the crude membrane pellet and homogenized with a Brinkmann PT-3100 Polytron homogenizer for 15 seconds at setting 8. The concentration of membrane protein is determined using the BRL Bradford protein assay.

B. BINDING ASSAY

[0239] For total binding, a total volume of 50ul of appropriately diluted membranes (diluted in assay buffer containing 50mM Tris HCl (pH 7.4), 10mM MgCl₂, and 1mM EDTA; 5-50ug protein) is added to 96-well polypropylene microtiter plates followed by addition of 100ul of assay buffer and 50ul of Radiolabelled RUP25 Ligand. For nonspecific binding, 50 ul of assay buffer is added instead of 100ul and an additional 50ul of 10uM cold RUP25 is added before 50ul of Radiolabelled RUP25 Ligand is added. Plates are then incubated at room temperature for 60-120 minutes. The binding reaction is terminated by filtering assay plates through a Microplate Devices GF/C Unifilter filtration plate with a Brandell 96-well plate harvester followed by washing with cold 50 mM Tris HCl, pH 7.4 containing 0.9% NaCl. Then, the bottom of the filtration plate are sealed, 50ul of Optiphase Supermix is added to each well, the top of the plates are sealed, and plates are counted in a TriLux MicroBeta scintillation counter. For compound competition studies, instead of adding 100ul of assay buffer, 100ul of appropriately diluted test compound is added to appropriate wells followed by addition of 50 ul of Radiolabelled RUP25 Ligand.

C. CALCULATIONS

[0240] The test compounds are initially assayed at 1 and 0.1 μM and then at a range of concentrations chosen such that the middle dose would cause about 50% inhibition of a Radio-RUP25 Ligand binding (i.e., IC₅₀). Specific binding in the absence of test compound (B₀) is the difference of total binding (B_T) minus non-specific binding (NSB) and similarly specific binding (in the presence of test compound) (B) is the difference of displacement binding (B_D) minus non-specific binding (NSB). IC₅₀ is determined from an inhibition response curve, logit-log plot of % B/B₀ vs concentration of test compound.

[0241] K_i is calculated by the Cheng and Prustoff transformation:

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

where [L] is the concentration of a Radio-RUP25 Ligand used in the assay and K_D is the dissociation constant of a Radio-RUP25 Ligand determined independently under the same binding conditions.

D. ALTERNATIVE BINDING ASSAY PROCEDURE

[0242] ³H-Nicotinic acid binding competition assay.

[0243] CHO-K1 cells stably expressing the niacin receptor were used to make membrane for binding analysis. Cells were grown to ~80% confluence in growth medium (F-12 Kaighn's modified medium (ATCC, #30-2004) containing 10%FBS (GIBCO, # 10438-026), 1 mg/ml G418 (GIBCO, #10131-027) and 1X Pen-Strep (Sigma P-0871), harvested

293

by scraping, and centrifuged at 12 000 X g, 4° Celsius, 10 minutes. Cell pellets were resuspended in harvest buffer (20 mM HEPES, 10 mM EDTA, pH 7.4) and homogenized with 4 X 10 second bursts of a 12 mm Polytron homogenizer, setting 5. Lysate was centrifuged at 2 000 X g, 4°, 10 minutes to remove unlysed cells and nuclei, and the resulting supernatant centrifuged at 39 000 X g, 4°, 45 minutes to pellet membranes. The resulting pellet was resuspended in wash buffer (20 mM HEPES, 0.1 mM EDTA, pH 7.4), homogenized with 3 X 10 second bursts of a 12 mm Polytron, setting 4, and re-centrifuged at 39 000 X g, 4°, 45 minutes. The resulting pellet was resuspended in wash buffer and stored in liquid nitrogen before use. The concentration of membrane proteins in this preparation was determined using the Pierce BCA protein assay, with BSA as a standard.

[0244] Equilibrium binding of ³H-nicotinic acid was performed in 96-well polypropylene plates. Reactions contained 140 µl membrane diluted in assay buffer (20 mM HEPES, pH 7.4, 1 mM MgCl₂, and 0.01 % CHAPS; 15-30 µg membrane protein/assay), 20 µl test compounds diluted in assay buffer (compound stocks were in 100% DMSO; final DMSO concentration in the assay was 0.25%), and 40 µl 250 nM tritiated niacin ([5,6-³H]-nicotinic acid: American Radiolabeled Chemicals, Inc., 20 µM in ethanol; final ethanol concentration in each assay was 1.5%). Non-specific binding was determined in the presence of 250 µM unlabeled nicotinic acid. After mixing at 3-4 hours at room temperature, reactions were filtered through Packard Unifilter GF/C plates using a Packard Harvester, and washed with 5 X 200 µl ice-cold binding buffer. Plates were dried overnight and their backs sealed using PerkinElmer tape designed for GF/C plates. 40 µl PerkinElmer Microscint-20 scintillation fluid was added to each well, the tops sealed, and plates analyzed in a Packard TopCount scintillation counter.

[0245] Calculations were performed as in C above.

[0246] Certain compounds of the invention have an EC₅₀ in the ³H-nicotinic acid binding competition assay within the range of about 10 to about 100 µM. More advantageous compounds of the invention have an EC₅₀ value in this assay within the range of about 1 to about 10 µM. Still more advantageous compounds have an EC₅₀ value in this assay of less than about 1 µM.

Example 7: Flushing via Laser Doppler

[0247] Procedure - Male C57Bl6 mice (~25g) are anesthetized using 10mg/ml/kg Nembutal sodium. When antagonists are to be administered they are co-injected with the Nembutal anesthesia. After ten minutes the animal is placed under the laser and the ear is folded back to expose the ventral side. The laser is positioned in the center of the ear and focused to an intensity of 8.4-9.0 V (with is generally ~4.5cm above the ear). Data acquisition is initiated with a 15 by 15 image format, auto interval, 60 images and a 20sec time delay with a medium resolution. Test compounds are administered following the 10th image via injection into the peritoneal space. Images 1-10 are considered the animal's baseline and data is normalized to an average of the baseline mean intensities.

Materials and Methods - Laser Doppler Primed PimII; Niacin (Sigma); Nembutal (Abbott labs).

Example 8: Inhibition of Free Fatty-Acid Production, *in vivo*, in Catheterized Male Sprague-Dawley Rats

[0248] Non-esterified free-fatty acid (NEFA) assays were done on serum derived from live, freely moving rats. Jugular vein catheters were surgically implanted into the jugular veins and the animals were allowed to recover at least 48hr post surgery. Food was removed from the animals approximately 16 hours prior to the assay. A draw of ~200µl blood was pulled from the catheter and represents the baseline NEFA serum sample. Drug was administered intra-peritoneally (IP) at various concentrations to individual rats and then ~200µl blood draws were pulled from the catheter at the indicated time points for further NEFA analysis. NEFA assays were performed according to the manufacturer's specifications (Wako Chemicals, USA; NEFA C) and free fatty acid concentrations were determined via regression analysis of a known standard curve (range of known free fatty acids). Data was analyzed using Excel and PrismGraph.

Example 9:

[0249] The invention will now be illustrated by the following non-limiting examples in which, unless stated otherwise:

- (i) all operations were carried out at room or ambient temperature, that is, at a temperature in the range 18-25°C;
- (ii) evaporation of solvent was carried out using a rotary evaporator under reduced pressure (4.5-30 mmHg) with a bath temperature of up to 50°C;
- (iii) the course of reactions was followed by thin layer chromatography (TLC) and/or tandem high performance liquid chromatography (HPLC) followed by mass spectroscopy (MS), herein termed LCMS, and any reaction times are given for illustration only;
- (iv) the structure of all final compounds was assured by at least one of the following techniques: MS or proton nuclear magnetic resonance (¹H NMR) spectrometry, and the purity was assured by at least one of the following techniques:

294

TLC or HPLC;

(v) yields, if given, are for illustration only;

(vi) ^1H NMR spectra were recorded on either a Bruker Avance-400 or a Varian Unity or a Varian Inova Instrument at 400 or 500 or 600 MHz using the indicated solvent; when line-listed, NMR data is in the form of delta (δ) values for major diagnostic protons, given in parts per million (ppm) relative to residual solvent peaks (multiplicity and number of hydrogens); conventional abbreviations used for signal shape are: s. singlet; d. doublet (apparent); t. triplet (apparent); m. multiplet; br. broad;

(vii) MS data were recorded on a Waters Micromass unit or API 150EX, interfaced with a Hewlett-Packard (Agilent 1100) or Shimadzu (LC-10AD VP) HPLC instrument, and operating on MassLynx/OpenLynx or Analyst 1.2 software; electrospray ionization was used with positive (ES+) or negative ion (ES-) detection; the method for LCMS ES+ was 1-2 mL/min, 10-95% B linear gradient over 5.5 min (B = 0.05% TFA-acetonitrile, A = 0.05% TFA-water), and the method for LCMS ES- was 1-2 mL/min, 10-95% B linear gradient over 5.5 min (B = 0.1 % formic acid - acetonitrile, A = 0.1 % formic acid - water), Waters XTerra C18 - 3.5 μm - 50 x 3.0 mmID and diode array detection;

(viii) the purification of compounds by preparative reverse phase HPLC (RP-HPLC) was conducted on either a Waters Symmetry Prep C18 - 5 μm - 30 x 100 mmID, or a Waters Atlantis Prep dC18 - 5 μm - 20 x 100 mmID; 20 mL/min, 10-100% B linear gradient over 15 min (B = 0.05% TFA-acetonitrile, A = 0.05% TFA-water), and diode array detection;

(ix) the automated purification of compounds by preparative reverse phase HPLC was performed on a Gilson system using a YMC-Pack Pro C18 column (150 x 20 mm i.d.) eluting at 20 mL/min with 0 - 50% acetonitrile in water (0.1% TFA);

(x) the purification of compounds by preparative thin layer chromatography (PTLC) was conducted on 20 x 20 cm glass prep plates coated with silica gel, or centrifugal chromatography on a chromatotron using glass rotors coated with silica gel, both commercially available from Analtech;

(xi) column chromatography was carried out on a silica gel column using Kieselgel 60, 0.063-0.200 mm (Merck).

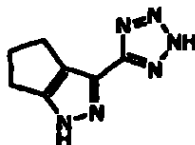
(xii) microwave irradiations were carried out using the Smith Synthesizer (Parsons Chemistry).

(xiii) chemical symbols have their usual meanings; the following abbreviations have also been used v (volume), w (weight), b.p. (boiling point), m.p. (melting point), L (litre(s)), mL (millilitre(s)), g (gram(s)), mg (milligram(s)), mol (moles), mmol (millimoles), eq or equiv (equivalent(s)), IC_{50} (molar concentration which results in 50% of maximum possible inhibition), EC_{50} (molar concentration which produces 50% of the maximum possible efficacy or response), μM (micromolar), nM (nanomolar).

[0250] The following examples are provided so that the invention might be more fully understood.

Example 9.1: 3-(2H-Tetrazol-5-yl)-1,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazole (Compound 1).

[0251]



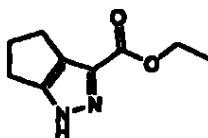
Method A: Preparation of Compound 1.

[0252] 1,4,5,6-Tetrahydro-cyclopentapyrazole-3-carbonitrile (0.022 g, 0.165 mmol) and sodium azide (0.066 g, 1.30 mmol) were taken up in DMF (3 cm^3) at heated under microwave irradiation to 175°C for 20 minutes. The solution was cooled to room temperature, filtered and the filtered solid washed with ethyl acetate. The combined solutions was added to saturated aqueous sodium bicarbonate (20 cm^3) and washed with ethyl acetate. The aqueous layer was acidified to pH 1 with the addition of 1M aqueous hydrochloric acid and extracted into ethyl acetate. The ethyl acetate washes were combined and solvent removed under reduced pressure, the resulting solid purified by preparative HPLC to give 3-(2H-tetrazol-5-yl)-1,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazole as a white solid (0.012 g, 0.068 mmol, 41%). ^1H NMR δ (CD_3OD): 2.88 (t-like, 2H, J=7.0), 2.82 (t-like, 2H, J=7.3), 2.64 (quintet-like, 2H, J=7.1); m/z (ES $^+$): 177 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$.

[0253] The intermediate 1,4,5,6-Tetrahydro-cyclopentapyrazole-3-carbonitrile was prepared using the following procedure.

Step A: 1,4,5,6-Tetrahydro-cyclopentapyrazole-3-carboxylic acid ethyl ester

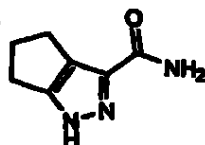
[0254]



[0255] Cyclopentanone (10.0g, 118.9 mmol) was taken up in absolute ethanol (30 cm³) and sodium ethoxide (53 cm³, 21% in ethanol, 143 mmol) was added. The resulting solution was stirred under argon for 10 minutes, then diethyl oxalate (19.1 g, 131 mmol) added. Further ethanol (10 cm³) was added and the solution heated at 75°C for 3 hours and cooled to room temperature. Hydrazine hydrochloride (8.15 g, 119 mmol), taken up in water (20 cm³) was added and the solution heated to 75°C overnight. Solvent was removed under reduced pressure and the resulting taken up in ethyl acetate (200 cm³) and washed with water (200 cm³), dried (Na₂SO₄), filtered and solvent removed under reduced pressure to give 1,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazole-3-carboxylic acid ethyl ester as an offwhite solid (18.18 g, 90.0 mmol, 76%). δ_H (CD₃OD): 4.34 (q, 2H, J=7.1, OCH₂CH₃), 2.78 (t like, 2H, J=7.0), 2.72 (br s, 2H), 2.49 (br s, 2H), 1.36 (t, 3H, J=7.1, OCH₂CH₃). m/z (ES⁺): 181 [M+H]⁺.

Step B: 1,4,5,6-Tetrahydro-cyclopentapyrazole-3-carboxylic acid amide.

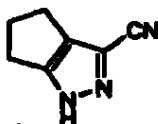
[0256]



[0257] 1,4,5,6-Tetrahydro-cyclopentapyrazole-3-carboxylic acid ethyl ester (0.808g, 4.48 mmol) was taken up in methanolic ammonia (ca 7 M, 12 cm³) and stirred overnight at 85°C. The resulting solution was chilled and the precipitated 1,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazole-3-carboxylic acid amide collected by vacuum filtration as a white crystalline solid (0.438g, 2.90 mmol, 65%). δ_H (CD₃OD): 2.79 (t like, 2H, J=6.9), 2.73 (t like, 2H, J=7.3), 2.55 (br s, 2H); m/z (ES⁺): 152 [M+H]⁺.

Step C: 1,4,5,6-Tetrahydro-cyclopentapyrazole-3-carbonitrile.

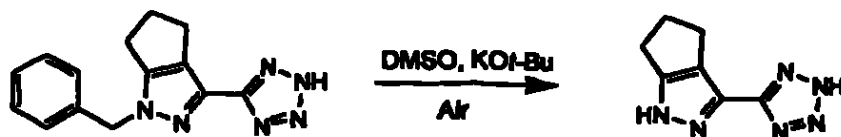
[0258]



[0259] 1,4,5,6-Tetrahydro-cyclopentapyrazole-3-carboxylic acid amide (0.210 g, 1.39 mmol) was added to anhydrous acetonitrile (12 cm³), heated to 80°C and sodium chloride (2.0 g, 34 mmol) added. After 15 minutes phosphorus oxychloride (0.128 g, 0.83 mmol) was added and the solution heated to 80°C overnight, cooled, filtered, and the collected solid washed with acetonitrile. Solvent was removed from the combined solutions under reduced pressure and the resulting solid purified by preparative HPLC to give 1,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazole-3-carbonitrile as a deep purple coloured solid (0.031 g, 0.23 mmol, 17%). δ_H (CD₃OD): 2.79 (t like, 2H, J=7.3), 2.73 (t like, 2H, J=7.1), 2.65-2.55 (m, 2H); m/z (ES⁺): 134 [M+H]⁺.

Method B: Preparation of Compound 1.

[0260]

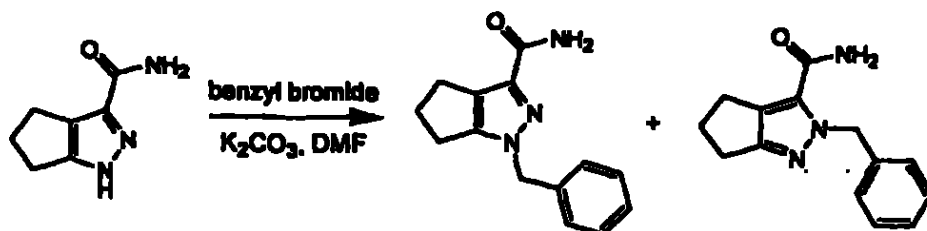


[0261] Air was bubbled through a stirring solution of 1-benzyl-3-(2H-tetrazol-5-yl)-1,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazole (1.92 g, 7.21 mmol) and KOt-Bu (65 mL of a 1M solution in THF) in DMSO (50 mL) for a period of 2.0 h. The reaction was acidified to pH = 2 by the addition of HCl (3M aq). The mixture was filtered and the filtrate was concentrated *in vacuo* to remove volatiles. The material was purified by reverse-phase HPLC: Phenomenex® Luna C18 column (10 μ , 250 $\times$ 50 mm), 5% (v/v) CH₃CN (containing 1% v/v TFA) in H₂O (containing 1% v/v TFA) gradient to 50% H₂O, 60 ml/min, λ = 214 nm. The product was further purified by loading material on a Varian BondElut® 60 mL, 109 SCX cartridge. MeOH (150 mL) was passed through the column to remove unbound impurities. The product was then eluted by passing a solution of 2NH₃ in MeOH (150 mL) through the column. Concentration of the eluent yielded the ammonium salt of Compound 1 (947 mg, 5.38 mmol, 75% yield) as a white solid. ¹H NMR (ammonium salt, 400MHz, CD₃OD): δ 2.66 (2H, t, J = 6.8 Hz), 2.74 (2H, t, J = 6.8 Hz), 2.52 (2H, quin, J = 6.8 Hz). HPLC/MS: Discovery® C 18 column (5 μ , 50 $\times$ 2.1 mm), 5% v/v CH₃CN (containing 1% v/v TFA) in H₂O (containing 1% v/v TFA) gradient to 99% v/v CH₃CN in H₂O, 0.75 mL/min, t_r = 1.22 min, ESI⁺ = 177.3 (M + H). Anal Calcd for C₇H₉N₅ (neutral compound): C, 47.72; H, 4.58. Found: C, 47.27; H, 4.18. Anal Calcd for C₇H₁₁N₇ (ammonium salt): C, 43.51; H, 5.74. Found: C, 42.94; H, 5.30.

[0262] The intermediate 1-benzyl-3-(2H-tetrazol-5-yl)-1,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazole was prepared using the following procedure.

Step A: Preparation of 1-Benzyl-1,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazole-3-carboxylic acid amide and 2-Benzyl-2,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazole-3-carboxylic acid amide.

[0263]



[0264] To a stirring solution of 1,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazole-3-carboxylic acid amide (2.57 g, 17.0 mmol) in DMF (34 mL) at 25 °C was added K₂CO₃ (5.87 g, 42.5 mmol) followed by benzyl bromide (4.36 g, 25.5 mmol). The reaction was stirred at ambient temperature for 16 h at which time the mixture was diluted with EtOAc (75 mL) and filtered. The filtrate was washed with H₂O (100 mL) and the aqueous phase was back-extracted with EtOAc (75 mL) and CH₂Cl₂ (75 mL). The combined organic extracts were dried over MgSO₄, filtered, and concentrated *in vacuo*. Purification by silica gel chromatography (50% EtOAc in hexanes gradient to 95% EtOAc in hexanes) gave 2-benzyl-2,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazole-3-carboxylic acid amide (739 mg, 3.07 mmol, 18% yield) isolated as a white solid followed by 1-benzyl-1,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazole-3-carboxylic acid amide (3.24 g, 13.4 mmol, 79% yield) isolated as a white solid.

[0265] 1-Benzyl-1,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazole-3-carboxylic acid amide. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7.37-7.30 (3H, m), 7.18 (2H, m), 6.67 (1H, bs), 6.34 (1H, bs), 5.19 (2H, s), 2.82 (2H, m), 2.51 (4H, m). ¹³C APT NMR (100 MHz, CDCl₃): δ up: 164.8, 155.2, 139.0, 136.0, 129.5, 55.3, 31.2, 24.1; down: 129.0, 128.3, 127.8. HPLC/MS: Alltech® Preval C18 column (5 μ , 50 $\times$ 4.8 mm), 5% v/v CH₃CN (containing 1% v/v TFA) in H₂O (containing 1% v/v TFA) gradient to 99% v/v CH₃CN in H₂O, 3.5 mL/min, t_r = 2.13 min, ESI⁺ = 242.2 (M + H).

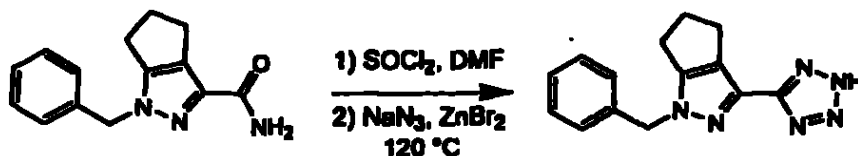
[0266] 2-Benzyl-2,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazole-3-carboxylic acid amide. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7.34-7.21 (5H, m), 5.76 (2H, s), 5.70-5.36 (2H, bs), 2.78 (4H, m), 2.49 (2H, m). ¹³C APT NMR (100 MHz, CDCl₃): δ up:

161.9, 160.1, 138.3, 128.3, 127.1, 55.1, 29.9, 24.8, 24.7; down: 128.8, 128.0, 127.8. HPLC/MS: Alltech® Preval C18 column (5 μ , 50 $\times$ 4.6 mm), 5% v/v CH₃CN (containing 1% v/v TFA) in H₂O (containing 1% v/v TFA) gradient to 99% v/v CH₃CN in H₂O, 3.5 mL/min, t_r = 1.98 min, ESI⁺ = 242.1 (M + H).

5 Step B: Preparation of 1-Benzyl-3-(2H-tetrazol-5-yl)-1,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazole

[0267]

10



15

[0268] To a solution of 1-benzyl-3-(2H-tetrazol-5-yl)-1,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazole-3-carboxylic acid amide (3.02 g, 12.53 mmol) in DMF (25 mL) at rt was added thionyl chloride (1.94 g, 16.3 mmol). The reaction was stirred for 18 h at which time NaHCO₃ (sat. eq., 8 mL) was added to quench excess thionyl chloride. The mixture was diluted with EtOAc (150 mL) and washed sequentially with NaHCO₃ (sat. eq., 100 mL) and brine (100 mL). The aqueous washes were back-extracted with EtOAc (2 $\times$ 100 mL) and the combined organics were dried over MgSO₄, filtered, and concentrated *in vacuo* to yield a crude yellow oil.

20

[0269] The concentrate was dissolved in DMF (20 mL) and placed in a heavy walled sealed reaction vessel at which time to which ZnBr₂ (4.70 g, 18.0 mmol) and NaN₃ (2.73 g, 42.0 mmol) were added sequentially. The vessel was sealed and heated to 120 °C for 18 h. The mixture was cooled to rt and HCl (3M eq., 2 mL) was added and stirring was continued for 5 min. The mixture was diluted with EtOAc (150 mL) and washed with HCl (1M, eq., 100 mL). The organics were dried over MgSO₄, filtered, and concentrated. Purification by silica gel chromatography (50 : 50 : 0.2, hexanes : EtOAc : AcOH gradient to 100 : 0.2, EtOAc : AcOH) gave 1-benzyl-3-(2H-tetrazol-5-yl)-1,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazole (2.06 g, 7.74 mmol, 62% yield) as a white solid. ¹H NMR (400MHz, CD₃OD): δ 7.36-7.25 (5H, m), 5.30 (2H, s), 2.84 (2H, t, J =8.4 Hz), 2.62-2.56 (4H, m). ¹³C APT NMR (100 MHz, CD₃OD): δ up: 153.8, 151.9, 137.8, 131.5, 128.9, 55.8, 31.9, 24.8, 24.8; down: 128.9, 129.1, 129.0. HPLC/MS: Discovery® C18 column (5 μ , 50 $\times$ 2.1 mm), 5% v/v CH₃CN (containing 1% v/v TFA) in H₂O (containing 1% v/v TFA) gradient to 99% v/v CH₃CN in H₂O, 0.75 mL/min, t_r = 2.18 min, ESI⁺ = 267.1 (M + H).

25

30

Method C: Preparation of Compound 1,

35

[0270]

40



45

[0271] To a solution of 1-benzyl-3-(2H-tetrazol-5-yl)-1,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazole (58.4 g, 223 mmol) in 10% formic acid/MeOH (vol/vol, 900 mL) was added palladium black (39.8g, 374 mmol). The mixture was mechanically stirred under N₂ atmosphere for 24 h. The reaction was filtered and concentrated. The product was further purified and converted to the ammonium salt by the following by loading material (as a solution in MeOH) on to a column containing Bondesil SCX SPE resin (750 g). The column was flushed with MeOH (2.0 L) to remove unbound impurities. The product was eluted using 2N NH₃/MeOH (approx. 1.5 L). Upon concentration the ammonium salt of the tetrazole (39.3 g, 203 mmol, 91% yield) was obtained as a white solid.

50

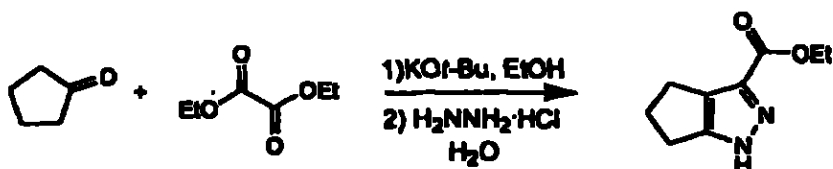
[0272] The intermediate 1-benzyl-3-(2H-tetrazol-5-yl)-1,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazole was prepared using the following procedure.

55

Step A: Preparation of 1,4,5,6-Tetrahydro-cyclopentapyrazole-3-carboxylic acid ethyl ester.

[0273]

5



10

[0274] To a solution of cyclopentanone (42.0 g, 0.50 mol) and diethyl oxalate (73.1 g, 0.50 mol) in EtOH (2.5 L) at rt under N_2 was added a solution of KOt-Bu in THF (500 mL of a 1M solution, 0.50 mol) over 0.5 h via an addition funnel. The reaction was stirred for 3.5 h at which time the flask was cooled to 0 °C. Hydrazine hydrochloride (37.6 g, 0.55 mol) in H_2O (250 mL) was added via addition funnel over 0.5 h. The reaction was warmed to rt and stirred for 18 h. The volatiles were removed *in vacuo* and the resulting solid was washed with NaHCO_3 (sat. aq., 500 mL) and H_2O (500 mL). Further concentration *in vacuo* gave pure 1,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazole-3-carboxylic acid ethyl ester (63.6 g, 0.35 mol, 71 % yield) as a yellow solid.

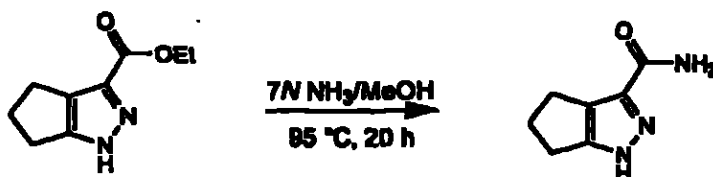
15

Step B: Preparation of 1,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazole-3-carboxylic acid amide.

[0275]

20

25



30

[0276] 1,4,5,6-Tetrahydro-cyclopentapyrazole-3-carboxylic acid ethyl ester (63.5 g, 0.35 mmol) was dissolved in a solution of 7N NH_3/MeOH (1.0 L). The solution was divided into four equal portions each of which was transferred to 350 mL heavy-walled sealed reaction vessel. The vessels were heated to 85 °C and stirred for 20 h. The reactions were cooled to rt at which time a solid precipitated. The solution was filtered and the solid was washed with NaOH (1N aq., 200 mL) giving pure 1,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazole-3-carboxylic acid amide (42.0 g, 0.20 mol, 80% yield) as a white solid.

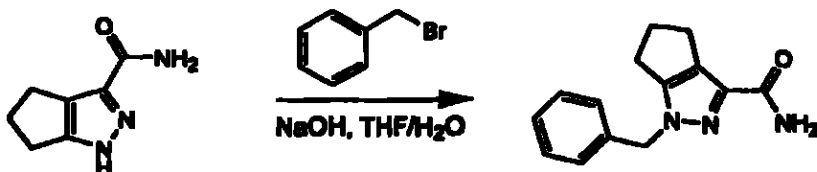
35

Step C: Preparation of 1-Benzyl-1,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazole-3-carboxylic acid amide and 2-Benzyl-1,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazole-3-carboxylic acid amide.

[0277]

40

45



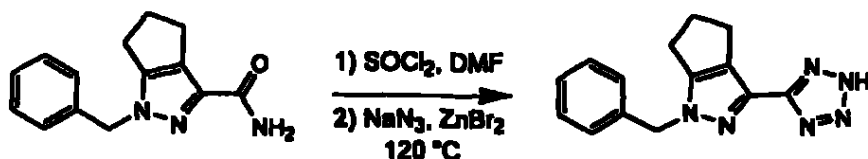
50

[0278] To a solution of 1,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazole-3-carboxylic acid amide (41.5 g, 275 mmol) in THF (480 mL) at rt was added a solution of NaOH (5N aq., 110 mL, 0.54 mol). After stirring for 5 min benzyl bromide (49.2 g, 0.28 mol) was added and the reaction was stirred for 18 h. The volatiles were removed *in vacuo* and the resulting solid was washed with H_2O (3 $\times$ 250 mL). Further concentration gave regioisomers of 1-benzyl-1,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazole-3-carboxylic acid amide and 2-benzyl-1,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazole-3-carboxylic acid amide (65.3 g, 270 mmol, 88% yield) as a 20 : 1 mixture and was used without separation).

55

Step D: Preparation of 1-Benzyl-3-(2H-tetrazol-5-yl)-1,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazole

[0279]

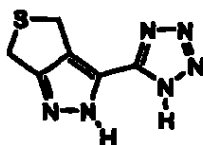


[0280] A flask equipped with a drying tube under N₂ atmosphere was charged with anhydrous DMF (250 mL). The flask was cooled to 0 °C and thionyl chloride (38.7 g, 309 mmol) was added via syringe over a period of 5 min. After stirring for an additional 10 min, a solution of 1-benzyl-1,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazole-3-carboxylic acid amide (67.7 g, 281 mmol) in DMF (310 mL) was added over 5 min using an addition funnel. The mixture was slowly warmed to rt and stirred for 16 hr. NaHCO₃ (sat. aq., 100 mL) was added and the mixture was stirred for 10 min. The volatiles were removed *in vacuo* and the residue was diluted with EtOAc (700 mL) and NaHCO₃ (sat. aq., 700 mL). The layers were separated and the aqueous phase was back-extracted with EtOAc (400 mL). The combined organics were washed with NaHCO₃ (sat. aq., 600 mL) and brine (800 mL), dried over MgSO₄, filtered, and concentrated to give 63.1 g of nitrile as a brown solid.

[0281] To a solution of the nitrile (from above) in DMF (580 mL) was added ZnBr₂ (95.6 g, 425 mmol) followed by NaN₃ (55.2 g, 849 mmol). The mixture was heated to 120 °C and stirred for 14 h. The reaction was cooled to rt and the DMF was removed *in vacuo*. HCl (2Naq., 800 mL) was added and the mixture was stirred for 15 min followed by filtration. The solid was added to a biphasic mixture of EtOAc (500 mL) and HCl (5N aq., 300 mL) and stirred for 0.6 h. The solution was filtered and the layers separated. The remaining solid was again treated with EtOAc and HCl (5N aq.) as described above and this process (stir, filter, separate) was repeated until all solid material was dissolved. The combined organic filtrates were concentrated to give 1-benzyl-3-(2H-tetrazol-5-yl)-1,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazole (61.0 g, 229 mmol, 81% yield from the amide) as a light brown solid.

Example 9.2: 3-(1H-Tetrazol-5-yl)-2,6-dihydro-4H-thieno[3,4-c]pyrazole (Compound 2).

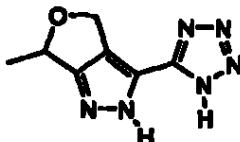
[0282]



[0283] Compound 2 was prepared in a similar manner as described in Example 9.1, and was characterized by NMR and MS; ¹H NMR (400MHz, MeOD): (400 MHz, CD₃OD) 8.11 (dd, *J* = 4.0, 2.2 Hz, 2 H), 4.03 (dd, *J* = 3.8, 2.2 Hz, 2 H). HPLC/MS: Waters® YMC ODS-A C 18 column (5μ, 50 × 4.6 mm), 5% v/v CH₃CN (containing 1% v/v TFA) in H₂O (containing 1% v/v TFA) gradient to 99% v/v CH₃CN in H₂O, 3.5 mL/min, *t*_r = 1.27 min, ESI⁺ = 194 (M + H).

Example 9.3: 6-Methyl-3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,6-dihydro-4H-furo[3,4-c]pyrazole (Compound 3).

[0284]



[0285] Compound 3 was prepared in a similar manner as described in Example 9.1, a separation by column chromatography of the regioisomers was performed after the formation of the pyrazole.

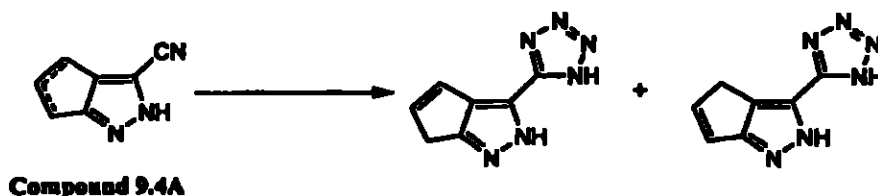
Compound 3 was characterized by NMR and MS; ¹H NMR (400MHz, DMSO): 8.20 (m, 1H), 4.94 (dd, *J* = 34.7, 10.3 Hz, 2 H); 1.39 (d, *J* = 4.4 Hz, 3H). HPLC/MS: Alltech® Prevaal C18 column (5μ, 50 × 4.6 mm), 5% v/v CH₃CN (containing 1% v/v TFA) in H₂O (containing 1% v/v TFA) gradient to 99% v/v CH₃CN in H₂O, 3.5 mL/min, *t*_r = 1.03 min, ESI⁺ = 192 (M + H).

Example 9.4: 3-(1H-Tetrazol-5-yl)-1,4-dihydro-cyclopentapyrazole (Compound 4) and 3-(1H-Tetrazol-5-yl)-1,6-dihydro-cyclopentapyrazole (Compound 5).

[0286]

5

10



15

[0287] A solution of Compound 9.4A, as an isomeric mixture, (50 mg, 0.38 mmol), sodium azide (88.5 mg, 1.33 mmol) and zinc bromide (300 mg, 1.33 mmol) in DMF (2 mL) was irradiated under microwave at 200 °C for 8 hours. After cooling to room temperature, the reaction mixture was treated with a 2 N HCl solution, extracted with EtOAc, washed with H₂O and concentrated in vacuo. HPLC separation (C18 column, 5 to 99 % CH₃CN in H₂O) afforded 40.3 mg (81 %) of the desired product as a 2:1 mixture of olefinic isomers. LC-MS *m/z* 175 (M+1); ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 6.94 (m, 0.5 H), 6.87 (m, 1H), 6.78 (m, 1H), 6.40 (m, 0.5 H), 3.35 (m, 3 H).

20

[0288] The isomers were separated by reverse-phase HPLC: Phenomenex® Luna C18 column (10 μ, 250×21.2 mm), 5% (v/v) CH₃CN (containing 1% v/v TFA) in H₂O (containing 1% v/v TFA) gradient to 70% H₂O, 20 mL/min, λ = 280 nm.

[0289] Alternatively the isomers were separated by normal-phase HPLC: Dynamax Miconorb SI (prep) column (8 μ, 250 × 10 mm), 80% (v/v) EtOAc (containing 2% v/v AcOH) in hexanes (containing 2% v/v AcOH) gradient to 99% EtOAc, 7.5 mL/min, λ = 280 nm.

25

The order of isomer elution is the same for both normal and reverse-phase columns.

[0290] Isomer 1 (High R_f isomer):

¹H NMR (400MHz, MeOD): δ 6.79 (2H, m), 3.42 (2H, m). HPLC/MS: Discovery® C18 column (5μ, 50 × 2.1 mm), 5% v/v CH₃CN (containing 1% v/v TFA) in H₂O (containing 1% v/v TFA) gradient to 99% v/v CH₃CN in H₂O, 0.75 mL/min, *t*_r = 1.10 min, ESI⁺ = 174.9 (M + H).

30

[0291] Isomer 2 (Low R_f isomer):

¹H NMR (400MHz, MeOD): δ 6.98 (1H, m), 6.44 (1H, m), 3.33 (2H, m). HPLC/MS: Discovery® C18 column (5μ, 50 × 2.1 mm), 5% v/v CH₃CN (containing 1% v/v TFA) in H₂O (containing 1% v/v TFA) gradient to 99% v/v CH₃CN in H₂O, 0.75 mL/min, *t*_r = 1.11 min, ESI⁺ = 175.1 (M + H).

35

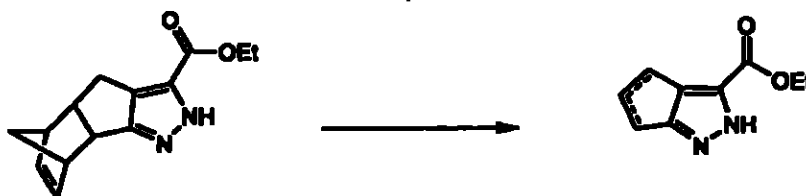
[0292] The intermediate Compound 9.4A, as an isomeric mixture, was prepared using the following steps:

Step A: Preparation of 2,6-Dihydro-cyclopentapyrazole-3-carboxylic acid ethyl ester and 2,4-Dihydro-cyclopentapyrazole-3-carboxylic acid ethyl ester (mixture).

40

[0293]

45



50

Compound 9.4B

Compound 9.4C

[0294] Compound 9.4B was prepared from the corresponding ketone using a similar method as described herein for the preparation of pyrazole esters (see Example 14.2). A solution of Compound 9.4B (2.0 g, 8.19 mmol) in phenyl ether (25 mL) was heated at reflux (250 - 280 °C) under nitrogen for 2 hours.

55

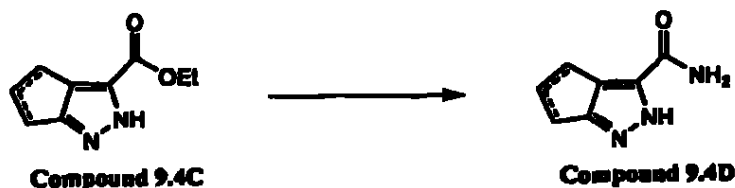
[0295] After cooling down the solution to room temperature, it was loaded on a SiO₂ column, flushed with DCM to push out the phenyl ether, and eluted with EtOAc/Hex (1/3) to afford 1.05 g (72%) of Compound 9.4C as a mixture of olefinic isomers. LC-MS *m/z* 179 (M+1).

Step B: Preparation of 2,6-Dihydro-cyclopentapyrazole-3-carboxylic acid amide and 2,4-Dihydro-cyclopentapyrazole-3-carboxylic acid amide (mixture).

[0296]

5

10



15

[0297] Compound 9.4C, as an isomeric mixture, (1.0 g, 5.61 mmol) was dissolved in smallest amount of dioxane (< 5 mL) and mixed with 28 % ammonium hydroxide solution (100 mL) in a tightly sealed container. The solution was stirred at room temperature for 24 hours and concentrated in vacuo to afford Compound 9.4D, as an isomeric mixture, as a solid in quantitative yield. LC-MS m/z 150 ($M+1$).

20

Step C: Preparation of 2,6-Dihydro-cyclopentapyrazole-3-carbonitrile and 2,4-Dihydro-cyclopentapyrazole-3-carbonitrile (mixture).

[0298]

25

30



35

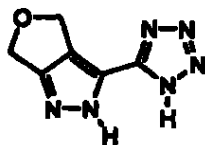
[0299] To a suspension of Compound 9.4D, as an isomer mixture, (0.80 g, 5.36 mmol) and potassium carbonate (0.445 g, 3.22 mmol) in acetonitrile (30 mL) was added POCl_3 (0.785 mL, 8.58 mmol) at room temperature. The reaction mixture was heated at reflux for 2 hours. After concentration in vacuo, the residue was diluted with EtOAc (150 mL), washed with H_2O and brine, dried (Na_2SO_4), and concentrated to afford 141 mg (20 %) of Compound 9.4A as an isomer mixture. LC-MS m/z 132 ($M+1$).

40

Example 9.5: 3-(1H-Tetrazol-5-yl)-2,6-dihydro-4H-furo[3,4-c]pyrazole (Compound 6).

[0300]

45



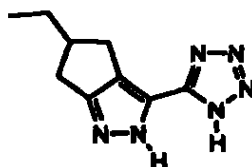
50

[0301] Compound 6 was prepared in a similar manner as described in Example 9.1, and was characterized by NMR and MS; LC-MS m/z 179($M+1$); ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 5.07 (t, $J=2.2$ Hz, 2 H), 4.92 (t, $J=2.2$ Hz, 2 H).

55

Example 9.6: 5-Ethyl-3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazole (Compound 7).

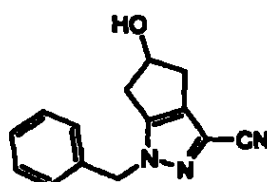
[0302]



[0303] Compound 7 was prepared in a similar manner as described in Example 9.1, and was characterized by NMR and MS: ^1H NMR (MeOD, 400 MHz): δ 3.07 (1H, dd, $J=14.8, 7.6$ Hz), 2.94-2.82 (2H, m), 2.51 (1H, dd, $J=15.2, 6.8$ Hz), 2.41 (1H, dd, $J=13.6, 5.6$ Hz), 1.8 (2H, m), 1.02 (3H, t, $J=7.2$ Hz). HPLC/MS: Discovery® C18 column (5 μ , 50 $\times$ 2.1 mm), 5% v/v CH₃CN (containing 1% v/v TFA) in H₂O (containing 1% v/v TFA) gradient to 98% v/v CH₃CN in H₂O, 0.75 mL/min, t_r = 1.42 min, ESI⁺ = 205.2 (M + H).

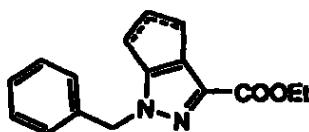
Example 9.7: Preparation of Intermediate 1-Benzyl-5-hydroxy-1,4,5,6-tetrahydrocyclopenta[c]pyrazole-3-carbonitrile.

[0304]



Step A: Preparation of 1-Benzyl-1,6-dihydro-cyclopentapyrazole-3-carboxylic acid ethyl ester and 1-Benzyl-1,4-dihydro-cyclopentapyrazole-3-carboxylic acid ethyl ester (mixture).

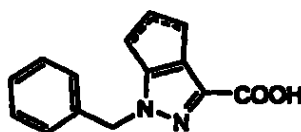
[0305]



[0306] To a solution of the pyrazole (Compound 9.4C, see Example 9.4, Step A, 2.0 g, 11.22 mmol) in anhydrous THF (100 mL) was added benzyl bromide (5.36 mmol, 44.88 mmol) and NaOH (1.79 g, 44.88 mmol). After stirring at room temperature for 1 hour, the reaction was quenched with 1N HCl (100 mL). The resulting mixture was extracted with ethyl acetate, washed with 1N HCl, saturated NaHCO₃ solution, brine and dried over anhydrous Na₂SO₄. The solution was filtered and concentrated *in vacuo*. This material was purified on the biotage flash 40M column (SiO₂) using 30% ethyl acetate-hexanes. A colorless oil was obtained. LC-MS: 3.22 min; (M+Na)=291.1.

Step B: Preparation of 1-Benzyl-1,6-dihydro-cyclopentapyrazole-3-carboxylic acid and 1-Benzyl-1,4-dihydro-cyclopentapyrazole-3-carboxylic acid (mixture).

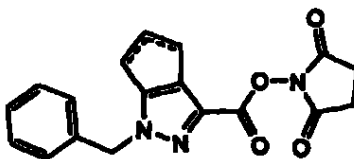
[0307]



[0308] To a solution of the intermediate from step A (3.55 g, 13.23 mmol) in 1:1 THF/MeOH (40 mL) was added NaOH solution (5N, 3.9 mL, 20 mmol). After 3 hours at room temperature, the reaction was quenched by adding 1N HCl (22 mL). The aqueous layer was extracted with ethyl acetate (3X) dried over anhydrous Na₂SO₄, filtered and concentrated *in vacuo*. A yellow solid was obtained which was used in the next step without any further purification. LC-MS: 2.82 min; (M+H)=241.1.

Step C: Preparation of 1-Benzyl-1,6-dihydro-cyclopentapyrazole-3-carboxylic acid 2,5-dioxo-pyrrolidin-1-yl ester and 1-Benzyl-1,4-dihydro-cyclopentapyrazole-3-carboxylic acid 2,5-dioxo-pyrrolidin-1-yl ester (mixture).

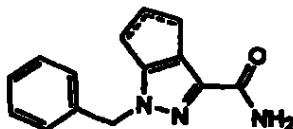
[0309]



[0310] To a solution of the intermediate from step B (3.17 g, 13.23 mmol) in CH₂Cl₂ (200 mL) was added *N*-hydroxy succinimide (3.04 g, 28.46 mmol) followed by EDC (5.07 g, 28.46 mmol). After stirring the reaction mixture at room temperature for 18 hours, it was concentrated *in vacuo*. The residue was diluted with ethyl acetate (200 mL), washed with saturated NaHCO₃ solution and brine. The organic layer was dried over anhydrous Na₂SO₄, filtered and concentrated *in vacuo*. A yellow solid was obtained. LC-MS: 2.99 min; (M+H)=338.1.

Step D: Preparation of 1-Benzyl-1,6-dihydro-cyclopentapyrazole-3-carboxylic acid amide and 1-Benzyl-1,4-dihydro-cyclopentapyrazole-3-carboxylic acid amide (mixture).

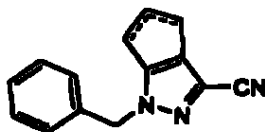
[0311]



[0312] To a solution of the intermediate from step C (4.45 g, 13.22 mmol) in 1,4-dioxane (150 mL) was added NH₄OH (14.8 N, 10.0 eq, 9.1 mL). A precipitate formed immediately. After stirring at room temperature for 15 minutes the reaction mixture was filtered through a sintered funnel and the precipitate washed with 1,4-dioxane. The filtrate was concentrated *in vacuo* to give a yellow solid. LC-MS: 2.55 min; (M+H)=240.1.

Step E: Preparation of 1-Benzyl-1,6-dihydro-cyclopentapyrazole-3-carbonitrile and 1-Benzyl-1,4-dihydro-cyclopentapyrazole-3-carbonitrile (mixture).

[0313]

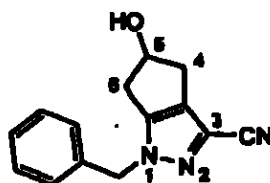


[0314] To a solution of the intermediate from step D in anhydrous DMF (50 mL) was added cyanuric chloride (2.33 g, 13.2 mmol). After stirring at room temperature for 15 minutes the reaction was quenched by pouring into water (100 mL). The resulting mixture was extracted with ethyl acetate, washed with saturated NaHCO₃, brine, dried over anhydrous Na₂SO₄, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was purified on the blotage flash 40 M column (SiO₂) using

20 % ethyl acetate-hexanes. A white solid was obtained. LC-MS: 3.22 min; (M+H)=222.2.

Step F: Preparation of 1-Benzyl-5-hydroxy-1,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazole-3-carbonitrile.

[0315]



[0316]

To a solution of the intermediate from step E (0.95 g, 4.29 mmol) in anhydrous THF (40 mL) cooled to 0 °C under a N₂ atmosphere was added Borane-THF (23 mmol, 5.36 eq, 1.0 M solution). The reaction was warmed to room temperature and stirred for 1 hour. The reaction was then cooled to 0 °C. Water was added (3 mL) followed by NaOH (4.29 mmol, 1.43 mL, 3N) and H₂O₂ (12.88 mmol, 1.32 mL, 30% solution in water). After heating the reaction at 50 °C for 30 minutes, it was cooled to room temperature and quenched by the addition of water. The resulting mixture was extracted with ethyl acetate (3X). The organic layer was dried over anhydrous Na₂SO₄, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by flash chromatography using 30 % ethyl acetate-hexanes to give a 1:1 mixture of the C-5 and C-6 alcohols.

[0317]

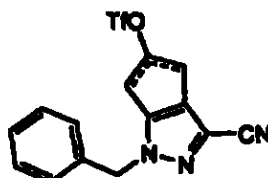
Less polar isomer (C-6 alcohol, Compound 17) ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 7.2 (m, 5H), 5.35 (d, J=14.9 Hz, 1H), 5.31 (d, J=14.6 Hz, 1H), 4.99 (dd, J=3.4, 6.9 Hz, 1H), 2.9 (m, 2H), 2.6 (m, 1H), 2.35 (m, 1H). LC-MS: 2.76 min; (M+H)=240.1.

[0318]

More polar isomer (C-5 alcohol) ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 7.4-7.2 (m, 5H), 5.28 (d, J=14.8 Hz, 1H), 5.25 (d, J=14.9 Hz, 1H), 5.01 (m, 1H), 3.13 (dd, J=6.4, 15.8 Hz, 1H), 2.89 (dd, J=6.6, 16.2 Hz, 1H), 2.68 (dd, J=3.7, 16.0 Hz, 1H), 2.52 (dd, J=3.4, 16.2 Hz, 1H). LC-MS: 2.60 min; (M+H)=240.1.

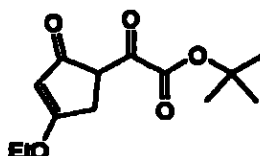
Example 9.8: Preparation of Intermediate Trifluoro-methanesulfonic acid 1-benzyl-3-cyano-1,6-dihydro-cyclopentapyrazol-5-yl ester and Trifluoro-methanesulfonic acid benzyl-3-cyano-1,4-dihydro-cyclopentapyrazol-5-yl ester as a regio-isomeric mixture.

[0319]



Step A: Preparation of (4-Ethoxy-2-oxo-cyclopent-3-enyl)-oxo-acetic acid tert-butyl ester.

[0320]



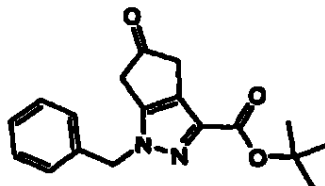
[0321]

To a solution, of 3-ethoxy cyclopentenone (2.12 g, 16.82 mmol) in anhydrous THF (40 mL) cooled to -78°C under a nitrogen atmosphere was added lithium diisopropyl amide (12 mL, 24 mmol, 2.0 M in THF). After 15 minutes,

a solution of di-*tert*-butyl dioxalate (3.73 g, 18.5 mmol) in THF (15 mL) was added. The reaction mixture was stirred at -78 °C for 15 minutes and then warmed to -20 °C and stirred for an additional 15 minutes. The reaction was quenched with 1N HCl (40 mL) and extracted with ethyl acetate (3X). The organic layer was washed with brine, dried over anhydrous Na₂SO₄, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by flash chromatography (SiO₂) using 35% ethyl acetate-hexanes to give the desired product (2.53 g) as an off white solid.

Step B: Preparation of 1-Benzyl-5-oxo-1,4,5,8-tetrahydro-cyclopentapyrazole-3-carboxylic acid *tert*-butyl ester.

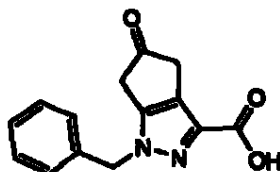
[0322]



To a solution of the Intermediate from step A (2.15 g, 8.45 mmol) in ethanol (100 mL) was added benzyl hydrazine hydrochloride (1.8 g, 9.22 mmol) and HOAc (10 mL). The reaction mixture was stirred at room temperature for 18 hours and then refluxed at 70 °C for 30 minutes. The reaction was cooled to room temperature and concentrated *in vacuo*. The residue was dissolved in ethyl acetate and washed with water, saturated NaHCO₃, and brine. The organic layer was dried over anhydrous Na₂SO₄, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by flash chromatography (SiO₂) using 30 % ethyl acetate-hexanes to give the desired product (1.84 g) a brown oil.

Step C: Preparation of 1-Benzyl-5-oxo-1,4,5,8-tetrahydro-cyclopentapyrazole-3-carboxylic acid.

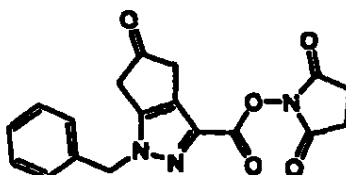
[0324]



To a solution of the Intermediate from step, B (1.84 g, 5.25 mmol) in dichloromethane (20 mL) was added trifluoroacetic acid (20 mL) and the resulting solution stirred at room temperature for 4 hours. The reaction mixture was concentrated *in vacuo* and azeotroped with toluene (3X). This material was carried on to the next step without any further purification.

Step D: Preparation of 1-Benzyl-5-oxo-1,4,5,8-tetrahydro-cyclopentapyrazole-3-carboxylic acid 2,5-dioxo-pyrrolidin-1-yl ester.

[0326]

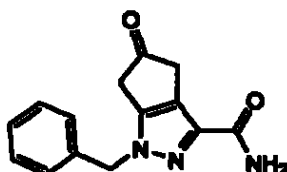


To a solution of the Intermediate from step C (1.34 g, 5.25 mmol) in CH₂Cl₂ (50 mL) was added *N*-hydroxy succinimide (1.21 g, 10.5 mmol) followed by EDC (2.01 g, 10.5 mmol). After stirring at room temperature for 18 hours,

the reaction mixture was concentrated *in vacuo*. The residue was diluted with ethyl acetate (200 mL), washed with saturated NaHCO₃ solution and brine. The organic layer was dried over anhydrous Na₂SO₄, filtered and concentrated *in vacuo*. A yellow solid was obtained.

Step E: Preparation of 1-Benzyl-5-oxo-1,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazole-3-carboxylic acid amide.

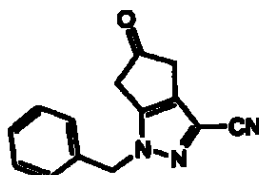
[0328]



[0329] To a solution of the intermediate from step D (2.0 g, 5.25 mmol) in 1,4-dioxane (50 mL) was added NH₄OH (14.8 N, 10.0 eq, 3.53 mL). A precipitate formed immediately. After stirring at room temperature for 15 minutes the reaction mixture was filtered through a fritted funnel and the precipitate washed with 1,4-dioxane. The filtrate was concentrated *in vacuo* to give a solid.

Step F: Preparation of 1-Benzyl-5-oxo-1,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazole-3-carbonitrile.

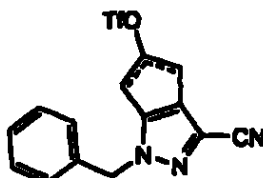
[0330]



[0331] To a solution of the intermediate from step E (5.25 mmol) in DMF (60 mL) was added cyanuric chloride (3.12g, 17 mmol) in three portions. After 30 minutes at room temperature, the reaction was quenched with water and extracted with ethyl acetate (2X). The organic layer was washed with water, brine and dried over anhydrous Na₂SO₄, filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by flash chromatography (SiO₂) using 30% ethyl acetate-hexanes to give the desired product (0.95 g) as a yellow solid.

Step G: Preparation of Trifluoro-methanesulfonic acid 1-benzyl-3-cyano-1,6-dihydro-cyclopentapyrazol-5-yl ester and Trifluoro-methanesulfonic acid 1-benzyl-3-cyano-1,4-dihydro-cyclopentapyrazol-5-yl ester (mixture).

[0332]

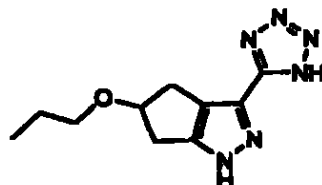


[0333] To a solution of the intermediate from step F (447 mg, 1.87 mmol) in anhydrous THF (14 mL) at -78 °C was added a solution of freshly prepared lithium diisopropyl amide (1.89 mmol) in THF (6 mL). After stirring the reaction at -78 °C for 30 minutes 2[N,N-Bis(trifluoromethylsulfonyl)amine]-5-chloropyridine (1.4 g, 3.6 mmol) was added. The reaction was warmed to -20 °C and stirred for 3 hours. The reaction was quenched with saturated NH₄Cl solution, and the resulting mixture was extracted with ethyl acetate, washed with 1N HCl solution, saturated NaHCO₃ solution and dried over

anhydrous Na_2SO_4 . The solution was filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was purified on the chromatotron using a 2000-micron rotor (SiO_2) and 5% ethyl acetate-hexanes as eluant to afford 383 mg of the desired product as a 2:1 mixture of double bond regio-isomers. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3): (Major isomer) δ 7.45-7.3 (m, 5H), 6.06 (bt, 1H), 5.41 (s, 2H), 3.56 (bd, 2H). ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3): (Minor isomer) δ 7.45-7.3 (m, 5H), 6.63 (bt, 1H), 5.38 (s, 2H), 3.18 (bd, 2H). LC-MS: (M+H)=370.25.

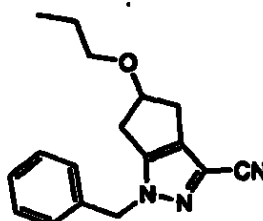
Example 9.9: 5-Propoxy-3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazole (Compound 12).

[0334]



Step A: Preparation of 1-Benzyl-5-propoxy-1,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazole-3-carbonitrile.

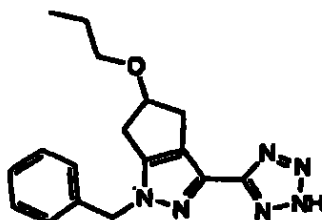
[0335]



[0336] To a solution of 1-benzyl-5-hydroxy-1,4,5,6-tetrahydrocyclopenta[c]pyrazole-3-carbonitrile (see Example 9.7, 30 mg, 0.125 mmol) in anhydrous DMF (2 mL) was added sodium hydride (6 mg, 0.15 mmol, 60% dispersion in oil). After stirring for 3 minutes propyl bromide was added (14 μL , 0.15 mmol) and the resulting mixture stirred for an hour. At the end of this time sodium hydride (6 mg, 0.15 mmol, 60% dispersion in oil) and propyl bromide were added. After 30 minutes the reaction was quenched by adding saturated NH_4Cl (3 mL). The resulting mixture was extracted with ethyl acetate, washed with brine, dried over anhydrous Na_2SO_4 , filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by PTLC (SiO_2) using 15% ethyl acetate-hexanes to give the desired product.

Step B: Preparation of 1-Benzyl-5-propoxy-3-(2H-tetrazol-5-yl)-1,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazole.

[0337]



[0338] To a solution of the intermediate from step A (25 mg, 0.089 mmol) in 2-propanol (1 mL) was added water (2 mL), sodium azide (14 mg, 0.222 mmol) and zinc bromide (10 mg, 0.04 mmol). After heating the reaction mixture at 90 $^{\circ}\text{C}$ for 18 hours, it was cooled to room temperature and HCl (3 mL, 3N) was added. The reaction mixture was extracted

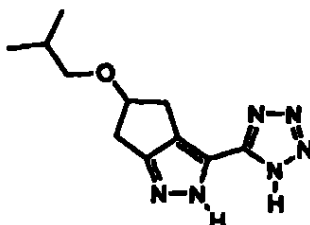
with ethyl acetate, washed with brine, dried over anhydrous Na_2SO_4 , filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by PTLC (SiO_2) using 100% ethyl acetate to give the desired product.

Step C. 5-Propoxy-3-(1 H-tetrazol-5-yl)-2,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazole (Compound 12).

[0339] To a solution of the intermediate from step B (26 mg, 0.06 mmol) in DMSO (0.6 mL) was added potassium-*t*-butoxide (0.6 mL, 0.6 mmol, 1.0 M in THF). Oxygen gas was bubbled through the reaction mixture for 15 minutes. The reaction was quenched with HCl (3 mL, 3N). The resulting mixture was extracted with ethyl acetate (5X) dried over anhydrous Na_2SO_4 , filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by reverse phase HPLC to afford the title compound. ^1H NMR (CDCl_3) δ 4.80 (m, 1H), 3.51 (m, 2H), 3.24 (dd, $J=6.8, 15.5$ Hz, 1H), 3.18 (dd, $J=6.9, 16.0$ Hz, 1H), 2.85 (dd, $J=4.1, 15.8$ Hz, 1H), 2.79 (dd, $J=4.4, 16.1$ Hz, 1H), 1.62 (m, 2H), 0.96 (t, $J=7.6$ Hz, 3H). LC-MS: 2.15 min; ($M+H$)=235.

Example 9.10: 5-Isobutoxy-3-(1 H-tetrazol-5-yl)-2,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazole (Compound 15).

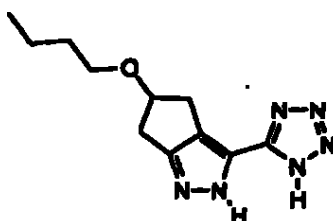
[0340]



[0341] The title compound was prepared from 1-benzyl-5-hydroxy-1,4,5,6-tetrahydrocyclopenta[c]pyrazole-3-carbonitrile (see Example 9.7) using a similar procedure described for the synthesis of Example 9.8. ^1H NMR (CDCl_3) δ 4.77 (m, 1H), 3.33 (m, 2H), 3.23 (dd, $J=6.9, 15.5$ Hz, 1H), 3.17 (dd, $J=6.9, 16.0$ Hz, 1H), 2.85 (dd, $J=4.1, 15.8$ Hz, 1H), 2.79 (dd, $J=4.2, 15.9$ Hz, 1H), 1.85 (m, 1H), 0.94 (d, $J=6.7$ Hz, 3H). LC-MS: 2.42 min; ($M+H$)=249.

Example 9.11: 5-Butoxy-3-(1 H-tetrazol-5-yl)-2,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazole (Compound 16).

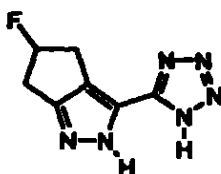
[0342]



[0343] The title compound was prepared from 1-benzyl-5-hydroxy-1,4,5,6-tetrahydrocyclopenta[c]pyrazole-3-carbonitrile (see Example 9.7) using a similar procedure described for the synthesis of Example 9.8. ^1H NMR (CDCl_3) δ 4.78 (m, 1H), 3.58 (m, 2H), 3.24 (dd, $J=6.8, 15.6$ Hz, 1H), 3.17 (dd, $J=6.9, 15.9$ Hz, 1H), 2.84 (dd, $J=4.1, 15.6$ Hz, 1H), 2.77 (dd, $J=4.8, 16.0$ Hz, 1H), 1.58 (m, 2H), 1.42 (m, 2H), 0.95 (t, $J=7.3$ Hz, 3H). LC-MS: 2.50 min; ($M+H$)=249.

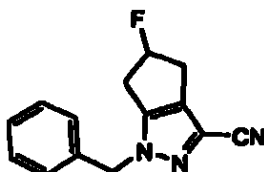
Example 9.12: 5-Fluoro-3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazole (Compound 14).

[0344]



Step A: Preparation of 1-Benzyl-5-fluoro-1,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazole-3-carbonitrile.

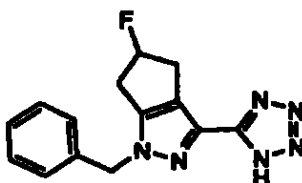
[0345]



[0346] To a solution of 1-benzyl-5-hydroxy-1,4,5,6-tetrahydro-cyclopenta[c]pyrazole-3-carbonitrile (see Example 9.7, 30 mg, 0.125 mmol) in anhydrous dichloromethane (0.9 mL) was added DAST (33 μ L, 0.25 mmol) under a nitrogen atmosphere. After stirring at room temperature for 15 minutes, the reaction mixture was diluted with ethyl acetate, washed with saturated NaHCO_3 solution and brine. The organic layer was dried over anhydrous Na_2SO_4 , filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by PTLC (SiO_2) using 30% ethyl acetate-hexanes to give the desired compound (16 mg).

Step B: Preparation of 1-Benzyl-5-fluoro-3-(1H-tetrazol-5-yl)-1,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazole.

[0347]



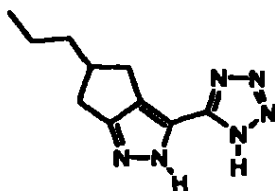
[0348] The compound was prepared from the cyano intermediate from Step A using a similar procedure described in Example 9.8, Step B.

Step C: 5-Fluoro-3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazole (Compound 14).

[0349] To a solution of the intermediate from step B (13 mg, 0.04 mmol) in MeOH (1 mL) was added formic acid (0.1 mL) followed by palladium black (10 mg). After stirring the reaction mixture under nitrogen atmosphere for 96 hours, it was filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by reverse phase HPLC (Gison) to give the title compound (4.9 mg). ^1H NMR (CD_3OD , 500 MHz) δ 5.8 (d, $J = 51.9$ Hz, 1H), 3.31-3.17 (m, 2H), 3.14-2.92 (m, 2H). LC-MS: 0.99 min; (M+H) $^+$ = 185.17.

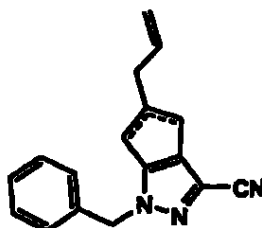
Example 9.13: 5-Propyl-3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazole (Compound 11).

[0350]



Step A: Preparation of 5-Alkyl-1-benzyl-1,4-dihydro-cyclopentapyrazole-3-carbonitrile and 5-Allyl-1-benzyl-1,4-dihydro-cyclopentapyrazole-3-carbonitrile (mixture).

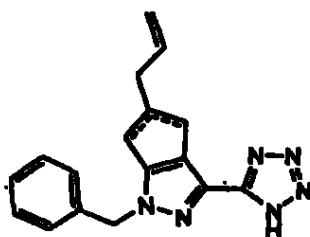
[0351]



[0352] To a solution of the trifluoromethanesulfonic ester intermediate described in Example 9.8 (114 mg, 0.307 mmol) in anhydrous THF (2 mL) was added tri-n-butyl allyl tin (112 mg, 0.338 mmol), lithium chloride (39 mg, 0.923 mmol) and tetrakis triphenyl phosphine palladium (0) (7.1 mg, 0.006 mmol). After refluxing the reaction mixture for 8 hours, it was cooled to room temperature and filtered. The residue was concentrated *in vacuo* and purified on the chromatotron using a 2000-micron rotor (SiO₂) and 20% ethyl acetate-hexanes as the eluant to give the desired product (33 mg).

Step B: Preparation of 5-Allyl-1-benzyl-3-(1H-tetrazol-5-yl)-1,4-dihydro-cyclopentapyrazole and 5-Allyl-1-benzyl-3-(1H-tetrazol-5-yl)-1,4-dihydro-cyclopentapyrazole (mixture).

[0353]



[0354] The compound was prepared from the intermediate obtained in step A above using a similar procedure described in Example 9.8, step B.

Step C: 5-Propyl-3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazole.

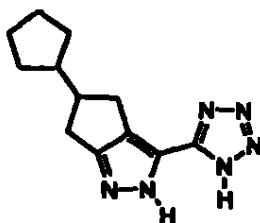
[0355] To a solution of the intermediate from step, B (18 mg, 0.059 mmol) in methanol was added a few drops of concentrated HCl until the reaction was homogeneous. Pd/C (1.8 mg) was added and the resulting mixture was stirred under a hydrogen atmosphere (balloon) for 24 hours. The reaction mixture was filtered, concentrated *in vacuo* and purified by reverse phase HPLC to give the title compound. ¹H NMR (CD₃OD, 500 MHz) δ 3.08 (m, 2H), 2.97 (dd, *J*=7.5, 15.1 Hz, 1H), 2.5 (m, 2H), 1.8 (m, 2H), 1.4 (m, 2H), 0.98 (t, *J*=7.3 Hz, 3H). LC-MS: 2.60 min; (M+H)⁺=219.38.

Example 9.14: 5-Cyclopentyl-3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazole (Compound 13).

[0356]

5

10

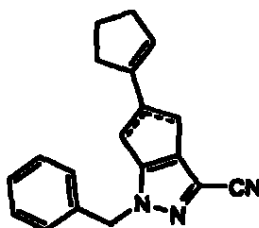


15 **Step A: Preparation of 1-Benzyl-5-cyclopent-1-enyl-1,8-dihydro-cyclopentapyrazole-3-carbonitrile and 1-Benzyl-5-cyclopent-1-enyl-1,4-dihydro-cyclopentapyrazole-3-carbonitrile (mixture).**

[0357]

20

25



30

35

[0358] To a solution of the trifluoromethanesulfonic ester intermediate described in Example 9.8 (185 mg, 0.501 mmol) in 1,4-dioxane was added cyclopenten-1-yl-boronic acid (82 mg, 0.551 mmol), potassium phosphate (180 mg, .751 mmol) and tetrakis triphenyl phosphine palladium (0). The reaction mixture was heated at 85 °C. After the reaction was complete, it was diluted with ethyl acetate, washed with 1N NaOH, brine and dried over anhydrous Na₂SO₄. The solution was filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was purified on the chromatotron using a 2000-micron rotor (SiO₂) and 20 % ethyl acetate-hexanes as the eluent.

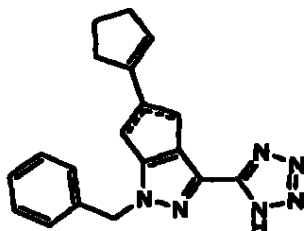
40

Step B: Preparation of 1-Benzyl-5-cyclopent-1-enyl-3-(1H-tetrazol-5-yl)-1,8-dihydro-cyclopentapyrazole and 1-Benzyl-5-cyclopent-1-enyl-3-(1H-tetrazol-5-yl)-1,4-dihydro-cyclopentapyrazole (mixture).

[0359]

45

50



55

[0360] The compound was prepared from the intermediate obtained in step A above using a similar procedure described in Example 9.8, step B.

Step C: 5-Cyclopentyl-3-(1H-tetrazol-5-yl)-1,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazole (Compound 13).

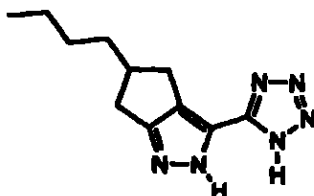
[0361] To a solution of the intermediate from step B (16 mg, 0.048 mmol) in methanol (2 mL) was added formic acid

312

(200 μ L). Palladium black (8.2 mg, 0.078 mmol) was added, and the resulting mixture was purged with nitrogen and stirred for 24 hours. Another portion of palladium black was added (8.2 mg, 0.078 mmol). After stirring for 48 hours, the reaction was filtered, concentrated *in vacuo*, and purified by reverse phase HPLC to give the title compound. ^1H NMR (CD_3OD , 500 MHz) δ 3.1-2.9 (m, 2H), 2.6 (m, 2H), 2.03 (m, 2H), 1.87 (m, 2H), 1.63 (m, 2H), 1.59 (m, 2H), 1.28 (m, 2H). LC-MS: 2.99 min; (M+H)=245.46.

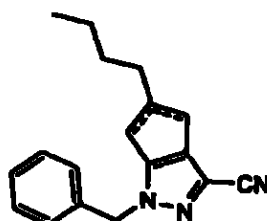
Example 9.15: 5-Butyl-3-(1H-tetrazol-5-yl)2,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazole (Compound 8).

[0362]



Step A: Preparation of 1-Benzyl-5-butyl-1,6-dihydro-cyclopentapyrazole-3-carbonitrile and 1-Benzyl-5-butyl-1,4-dihydro-cyclopentapyrazole-3-carbonitrile (mixture).

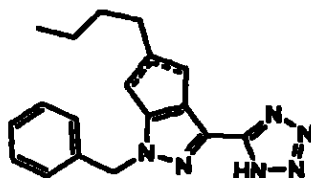
[0363]



[0364] To a solution of the trifluoromethanesulfonic ester intermediate described in Example 9.8 (180 mg, 0.486 mmol) in toluene (3 mL) was added *n*-butyl boronic acid (99 mg, 0.973 mmol), K_2CO_3 (201 mg, 1.46 mmol), $\text{PdCl}_2(\text{dppf})_2$ (12 mg, 0.0146 mmol) and Ag_2O (225 mg, 0.973 mmol). After refluxing the reaction mixture for 8 hours, it was cooled to room temperature and filtered. The residue was concentrated *in vacuo* and purified on the chromatotron using a 2000-micron rotor (SiO_2) and 5% ethyl acetate-20% ethyl acetate-hexanes as the eluant to give the desired product (52 mg).

Step B: Preparation of 1-Benzyl-5-butyl-3-(1H-tetrazol-5-yl)-1,6-dihydro-cyclopentapyrazole and 1-Benzyl-5-butyl-3-(1H-tetrazol-5-yl)-1,4-dihydro-cyclopentapyrazole (mixture).

[0365]



[0366] The compound was prepared from the intermediate obtained in step A above using a similar procedure described in Example 9.8 step B.

Step C: 5-Butyl-3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazole (Compound 8).

[0367] The compound was prepared from the intermediate obtained in step B above using a similar procedure described in Example 5 step C. ¹H NMR (CD₃OD, 500 MHz) δ 3.1 (m, 2H), 2.9 (m, 1H), 2.5 (m, 2H), 1.6 (m, 2H), 1.4 (m, 4H), 0.9 (t, J=7.0 Hz, 3H). LC-MS: 2.86 min; (M+H)=233.34.

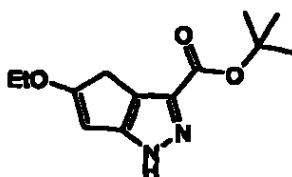
Example 9.16: 5-Methyl-3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,6-dihydro-cyclopentapyrazole (Compound 9) and 5-Methyl-3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,4-dihydro-cyclopentapyrazole (Compound 10).

[0368]



Step A: Preparation of 5-Ethoxy-1,4-dihydro-cyclopentapyrazole-3-carboxylic acid tert-butyl ester.

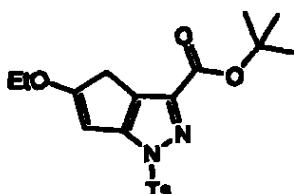
[0369]



[0370] To an ethanol (5 mL) solution of the ketoester (254 mg, 1.0 mmol), prepared from 3-ethoxy cyclopentanone as in step A of Example 9.8 above, was added hydrazine hydrate (34 μ L, 1.1 mmol), followed by acetic acid (0.5 mL). After refluxing the reaction mixture for 1.5 hours, it was cooled to room temperature and concentrated in vacuo. The residue was suspended in water and extracted with ethyl acetate. The organic layer was dried over anhydrous Na₂SO₄, filtered and concentrated in vacuo. The residue was purified by flash chromatography (SiO₂) using 25% ethyl acetate-hexanes to give the desired product as a white solid.

Step B: Preparation of 5-Ethoxy-1-(toluene-4-sulfonyl)-1,4-dihydrocyclopentapyrazole-3-carboxylic acid tert-butyl ester.

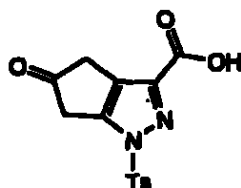
[0371]



[0372] To a solution of the pyrazole intermediate from step A (275 mg, 1.1 mmol) above in CH₂Cl₂ (5 mL) was added pyridine (176 μ L, 2.2 mmol) and *p*-toluene sulfonyl chloride (230 mg, 1.21 mmol). After stirring the resulting reaction mixture at room temperature for 3 hours it was diluted with CH₂Cl₂, washed with 1N HCl, saturated NaHCO₃, dried over anhydrous Na₂SO₄, filtered and concentrated in vacuo. The residue was purified by flash chromatography (SiO₂) using 10% ethyl acetate-hexanes.

Step C: Preparation of 5-Oxo-1-(toluene-4-sulfonyl)-1,4,5,6-tetrahydrocyclopentapyrazole-3-carboxylic acid.

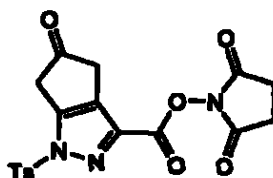
[0373]



[0374] To a solution of the intermediate from step B above, (414 mg, 1.02 mmol) in CH_2Cl_2 (2 mL) was added trifluoroacetic acid (2 mL). After stirring the reaction at room temperature for 1.5 hours it was concentrated *in vacuo* and azeotroped with toluene (2X). This material was used in the next step without any further purification.

Step D: Preparation of 5-Oxo-1-(toluene-4-sulfonyl)-1,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazole-3-carboxylic acid 2,5-dioxo-pyrrolidin-1-yl ester.

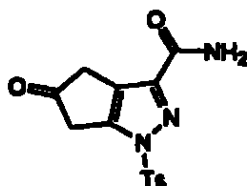
[0375]



[0376] To a solution of the intermediate from step C above, (320 mg, 1.0 mmol) in CH_2Cl_2 (20 mL) was added *N*-hydroxy succinimide (230 mg, 2.0 mmol) followed by EDC (384 mg, 2.0 mmol). After stirring at room temperature for 18 hours, the reaction mixture was concentrated *in vacuo*. The residue was diluted with ethyl acetate (20 mL), washed with saturated NaHCO_3 solution and brine. The organic layer was dried over anhydrous Na_2SO_4 , filtered and concentrated *in vacuo*. A yellow solid was obtained.

Step E: Preparation of 5-Oxo-1-(toluene-4-sulfonyl)-1,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazole-3-carboxylic acid amide.

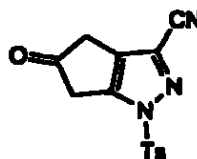
[0377]



[0378] To a solution of the intermediate from step D above, (360 mg, 0.91 mmol) in 1,4-dioxane (10 mL) was added NH_4OH (14.8 N, 10.0 eq, 0.61 mL). A precipitate formed immediately. After stirring at room temperature for 15 minutes the reaction mixture was filtered through a sintered funnel and the precipitate washed with 1,4-dioxane. The filtrate was concentrated *in vacuo* to give a yellow oil.

Step F: Preparation of 5-Oxo-1-(toluene-4-sulfonyl)-1,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazole-3-carbonitrile.

[0379]

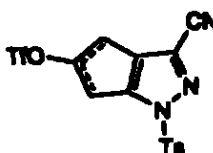


5

10 [0380] To a solution of the intermediate from step E above (0.91 mmol) in anhydrous DMF (5 mL) was added cyanuric chloride (334 mg, 2.0 mmol) in two portions. After stirring at room temperature for 15 minutes, the reaction was quenched by pouring into water (10 mL). The resulting mixture was extracted with ethyl acetate, washed with saturated NaHCO₃, brine, dried over anhydrous Na₂SO₄, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by flash chromatography (SiO₂) using 25 % ethyl acetate-hexanes. A white solid was obtained.

15 **Step G: Preparation of Trifluoro-methanesulfonic acid 3-cyano-1-(toluene-4-sulfonyl)-1,6-dihydro-cyclopentapyrazol-5-yl ester and Trifluoro-methanesulfonic acid 3-cyano-1-(toluene-4-sulfonyl)-1,4-dihydro-cyclopentapyrazol-5-yl ester (mixture).**

20 [0381]



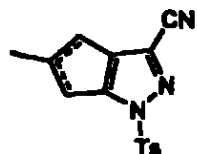
25

30 [0382] To a solution of the intermediate from step F (100 mg, 0.33 mmol) in anhydrous THF (5 mL) at -78 °C was added a solution of lithium diisopropyl amide (0.33 mmol, 188 µL, 2.0 M in THF) in THF (6 mL). After stirring the reaction at -78 °C for 30 minutes 2-[N,N-Bis(trifluoromethylsulfonyl)amine]-5-chloropyridine (185 mg, 0.496 mmol) was added. The reaction was warmed to 0 °C and stirred for 45 minutes. The reaction was quenched with 1N HCl solution, and the resulting mixture was extracted with ethyl acetate, washed with saturated NaHCO₃ solution and dried over anhydrous Na₂SO₄. The solution was filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by flash chromatography (SiO₂) using 5% ethyl acetate-hexanes as eluent to afford 79 mg of the desired product as a 4:1 mixture of double bond regio-

35

Step H: Preparation of 5-Methyl-1-(toluene-4-sulfonyl)-1,6-dihydro-cyclopentapyrazole-3-carbonitrile and 5-Methyl-1-(toluene-4-sulfonyl)-1,4-dihydro-cyclopentapyrazole-3-carbonitrile (mixture).

40 [0383]

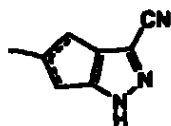


45

50 [0384] To a solution of the intermediate from step G above, (79 mg, 0.182 mmol) in toluene (1.5 mL) was added lithium chloride (39 mg, 0.912 mmol), tetramethyl tin (126 µL, 0.912 mmol) and tetrakis triphenyl phosphine palladium (0). After refluxing the reaction mixture for 45 minutes it was cooled to room temperature, diluted with ethyl acetate, washed with water. The organic layer was dried over anhydrous Na₂SO₄, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by flash chromatography (SiO₂) using 30 % ethyl acetate-hexanes to give (28 mg) the desired product.

55 **Step I: Preparation of 5-Methyl-1,6-dihydro-cyclopentapyrazole-3-carbonitrile and 5-Methyl-1,4-dihydro-cyclopentapyrazole-3-carbonitrile (mixture).**

[0385]



5

[0386] To a solution of the intermediate from step H above, (28 mg, 0.093 mmol) in anhydrous THF (3 mL) was added tetrabutyl ammonium fluoride (93 μ L, 0.093 mmol, 1.0 M in THF). After refluxing the reaction mixture for 30 minutes, it was cooled to room temperature and concentrated *in vacuo*. The residue was dissolved in ethyl acetate, washed with saturated NaHCO_3 , brine, dried over anhydrous Na_2SO_4 , filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by flash chromatography (SiO_2) using 30% ethyl acetate-hexanes to give a white solid.

10

Step J: 5-Methyl-3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,6-dihydro-cyclopentapyrazole (Compound 9) and 5-Methyl-3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,4-dihydro-cyclopentapyrazole (Compound 10).

15

[0387] To a solution of the intermediate from step I above (9.0 mg, 0.062 mmol) in 2-propanol (1 mL) was added water (0.5 mL), sodium azide (12 mg, 0.186 mmol) and zinc bromide (8.5 mg, 0.031 mmol). After heating the reaction mixture at 90°C for 18 hours, it was cooled to room temperature and HCl (1.5 mL, 3N) was added. The reaction mixture was extracted with ethyl acetate, washed with brine, dried over anhydrous Na_2SO_4 , filtered and concentrated *in vacuo* to give the desired product as a 2:1 ratio of double bond regio-isomers. Isomer (a): ^1H NMR (CD_3OD , 500 MHz) δ 6.43 (bs, 1H), 3.3 (s, 2H), 2.2 (s, 3H). Isomer (b): ^1H NMR (CD_3OD , 500 MHz) δ 6.58 (bs, 1H), 3.24 (s, 2H), 2.15 (s, 3H). LC-MS: 1.88 min, (M+H)=189.1

20

[0388] Throughout this application, various publications, patents and published patent applications are cited in order to more fully describe and disclose the invention and the state of the art to which the invention pertains.

25

[0389] Although a variety of expression vectors are available to those in the art, for purposes of utilization for both the endogenous and non-endogenous human GPCRs, it is most preferred that the vector utilized be pCMV. This vector was deposited with the American Type Culture Collection (ATCC) on October 13, 1998 (10801 University Blvd., Manassas, VA 20110-2209 USA) under the provisions of the Budapest Treaty for the International Recognition of the Deposit of Microorganisms for the Purpose of Patent Procedure. The DNA was tested by the ATCC and determined to be viable. The ATCC has assigned the following deposit number to pCMV: ATCC #203351.

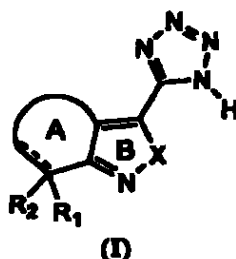
30

Claims

35

1. A compound of Formula (I):

40



45

wherein:

50

X is NH or O;

R₁ is selected from:

55

H,
halogen,
hydroxy,
thioxy,
cyano,

nitro,
 C₁₋₄ haloalkyl,
 amino,
 C₁₋₄ alkylamino,
 C₂₋₆ dialkylamino,
 C₁₋₄ alkyl,
 C₁₋₄ alkoxy,
 C₂₋₄ alkenyl,
 C₂₋₄ alkynyl,
 C₃₋₆ cycloalkyl,
 C₁₋₄ haloalkoxy,
 C₁₋₄ alkylthio,
 C₁₋₄ alkylsulfanyl,
 C₁₋₄ alkylsulfonyl,
 C₁₋₄ haloalkylthio,
 C₁₋₄ haloalkylsulfanyl, and
 C₁₋₄ haloalkylsulfonyl;

R₂ is selected from:

H,
 halogen,
 hydroxy,
 thioxy,
 cyano,
 nitro,
 C₁₋₄ haloalkyl,
 amino,
 C₁₋₄ alkylamino,
 C₂₋₆ dialkylamino,
 C₁₋₄ alkyl,
 C₁₋₄ alkoxy,
 C₂₋₄ alkenyl,
 C₂₋₄ alkynyl,
 C₃₋₆ cycloalkyl,
 C₁₋₄ haloalkoxy,
 C₁₋₄ alkylthio,
 C₁₋₄ alkylsulfanyl,
 C₁₋₄ alkylsulfonyl,
 C₁₋₄ haloalkylthio,
 C₁₋₄ haloalkylsulfanyl, and
 C₁₋₄ haloalkylsulfonyl;

or R₂ is absent;

— is a single bond when R₂ is present, or
 = is a double bond when R₂ is absent; and

Ring A is a 5-membered carbocyclic ring or a 5-membered heterocyclic ring,
 wherein "5-membered carbocyclic ring" denotes a ring containing 5 ring carbons wherein two ring carbons are
 shared by Rings A and B, and
 wherein "5-membered heterocyclic ring" denotes a 5-membered carbocyclic ring wherein 1, 2, or 3 ring carbons
 not shared by Rings A and B are independently replaced with -O-, -S-, -S(O)-, or -S(O)₂-, and
 wherein Ring A is optionally substituted with 1 to 4 substituents selected from:

halogen,
 hydroxy,
 thioxy,

318

cyano,
nitro,
C₁₋₄ haloalkyl,
amino,
5 C₁₋₄ alkylamino,
C₂₋₄ dialkylamino,
C₁₋₄ alkyl,
C₁₋₄ alkoxy,
C₂₋₄ alkenyl,
10 C₂₋₄ alkynyl,
C₃₋₆ cycloalkyl,
C₁₋₄ haloalkoxy,
C₁₋₄ alkylthio,
C₁₋₄ alkylsulfinyl,
15 C₁₋₄ alkylsulfonyl,
C₁₋₄ haloalkylthio,
C₁₋₄ haloalkylsulfinyl, and
C₁₋₄ haloalkylsulfonyl;

20 or a pharmaceutically acceptable salt, solvate, or hydrate thereof.

2. A compound according to claim 1, wherein Ring A is a 5-membered carbocyclic ring.
3. A compound according to claim 1, wherein Ring A is a 5-membered heterocyclic ring.
- 25 4. A compound according to claim 1, wherein Ring A is a 5-membered heterocyclic ring, wherein "5-membered heterocyclic ring" denotes a 5-membered carbocyclic ring wherein 1 ring carbon not shared by Rings A and B is independently replaced with -O-, -S-, -S(O)-, or -S(O)₂-.
- 30 5. A compound according to any one of claims 1 to 4, wherein:

X is NH;
R₁ is H or hydroxy;
R₂ is H or absent;
35 — is a single bond when R₂ is H, or
— is a double bond when R₂ is absent; and
Ring A is a 5-membered carbocyclic ring or a 5-membered heterocyclic ring optionally substituted with 1 to 4 substituents selected from:

40 halogen,
C₁₋₄ alkyl,
C₁₋₄ alkoxy, and
C₃₋₅ cycloalkyl; or a pharmaceutically acceptable salt, solvate, or hydrate thereof.

- 45 6. A compound according to claim 1 or 2 having Formula (If):



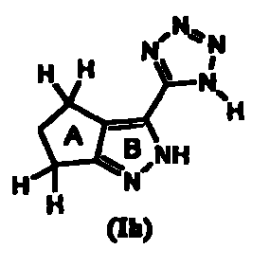
wherein:

R₁ is H or hydroxy; and
Ring A is optionally substituted with 1 or 2 substituents selected from:

- halogen,
- C₁₋₄ alkyl,
- C₁₋₄ alkoxy, and
- C₃₋₆ cycloalkyl;

or a pharmaceutically acceptable salt, solvate, or hydrate thereof.

7. A compound according to claim 1 or 2 having Formula (Ih):



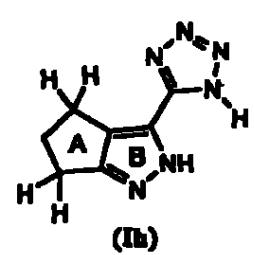
wherein:

Ring A is optionally substituted with 1 or 2 substituents selected from:

- halogen,
- C₁₋₄ alkyl,
- C₁₋₄ alkoxy, and
- C₃₋₆ cycloalkyl;

or a pharmaceutically acceptable salt, solvate, or hydrate thereof.

8. A compound according to claim 1 or 2 having Formula (Ih):

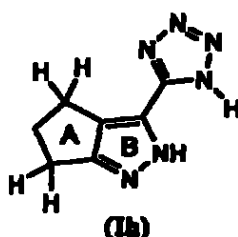


wherein:

Ring A is unsubstituted or is substituted with ethyl;

or a pharmaceutically acceptable salt, solvate, or hydrate thereof.

9. A compound according to claim 1 or 2 having Formula (Ih):



wherein:

Ring A is substituted with 1 or 2 substituents selected from:

halogen,
n-propyl,
n-butyl,
*C*₁₋₄ alkoxy, and
*C*₃₋₅ cycloalkyl;

or a pharmaceutically acceptable salt, solvate, or hydrate thereof.

10. A compound according to claim 1 that is:

3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,4,5,8-tetrahydro-cyclopentapyrazole

or a pharmaceutically acceptable salt, solvate or hydrate thereof.

11. A compound according to claim 1 that is:

3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,6-dihydro-4H-thieno[3,4-*c*]pyrazole

or a pharmaceutically acceptable salt, solvate or hydrate thereof.

12. A compound according to claim 1 that is:

6-methyl-3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,6-dihydro-4H-furo[3,4-*c*]pyrazole

or a pharmaceutically acceptable salt, solvate or hydrate thereof.

13. A compound according to claim 1 that is:

3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,4-dihydro-cyclopentapyrazole

or a pharmaceutically acceptable salt, solvate or hydrate thereof.

14. A compound according to claim 1 that is:

3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,6-dihydro-cyclopentapyrazole

or a pharmaceutically acceptable salt, solvate or hydrate thereof.

15. A compound according to claim 1 that is:

3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,6-dihydro-4H-furo[3,4-*c*]pyrazole

or a pharmaceutically acceptable salt, solvate or hydrate thereof.

321

16. A compound according to claim 1 that is:

5-ethyl-3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazole

or a pharmaceutically acceptable salt, solvate or hydrate thereof.

17. A compound according to claim 1 that is:

5-butyl-3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazole

or a pharmaceutically acceptable salt, solvate or hydrate thereof.

18. A compound according to claim 1 that is:

5-methyl-3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,6-dihydro-cyclopentapyrazole

or a pharmaceutically acceptable salt, solvate or hydrate thereof.

19. A compound according to claim 1 that is:

5-methyl-3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,4-dihydro-cyclopentapyrazole

or a pharmaceutically acceptable salt, solvate or hydrate thereof.

20. A compound according to claim 1 that is:

5-propyl-3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazole

or a pharmaceutically acceptable salt, solvate or hydrate thereof.

21. A compound according to claim 1 that is:

5-propoxy-3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazole

or a pharmaceutically acceptable salt, solvate or hydrate thereof.

22. A compound according to claim 1 that is:

5-cyclopentyl-3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazole

or a pharmaceutically acceptable salt, solvate or hydrate thereof.

23. A compound according to claim 1 that is:

5-fluoro-3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazole

or a pharmaceutically acceptable salt, solvate or hydrate thereof.

24. A compound according to claim 1 that is:

5-isobutoxy-3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazole

or a pharmaceutically acceptable salt, solvate or hydrate thereof.

25. A compound according to claim 1 that is:

5-butoxy-3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazole

322

or a pharmaceutically acceptable salt, solvate or hydrate thereof.

26. A compound according to claim 1 that is:

5 3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazol-6-ol

or a pharmaceutically acceptable salt, solvate or hydrate thereof.

27. A compound according to claim 1 that is:

10 5-methoxy-3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazole

or a pharmaceutically acceptable salt, solvate or hydrate thereof.

15 28. A compound according to claim 1 that is:

5,5-difluoro-3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazole

or a pharmaceutically acceptable salt, solvate or hydrate thereof.

20 29. A compound according to claim 1 that is:

5-ethoxy-3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,4,5,6-tetrahydro-cyclopentapyrazole

25 or a pharmaceutically acceptable salt, solvate or hydrate thereof.

30. A pharmaceutical composition comprising a compound according to any one of claims 1 to 29 in combination with a pharmaceutically acceptable carrier.

30 31. A method of producing a pharmaceutical composition comprising admixing a compound according to any one of claims 1 to 29 and a pharmaceutically acceptable carrier.

32. A compound according to any one of claims 1 to 29 for use in a method of treatment of the human or animal body by therapy.

35 33. A compound according to any one of claims 1 to 29 for use in a method of treatment of a metabolic-related disorder of the human or animal body by therapy.

40 34. A compound according to any one of claims 1 to 29 for use in a method of treatment of a metabolic-related disorder of the human or animal body by therapy, wherein said metabolic-related disorder is selected from: dyslipidemia, atherosclerosis, coronary heart disease, insulin resistance, and type 2 diabetes.

35 35. A compound according to any one of claims 1 to 29 for use in a method of treatment of atherosclerosis of the human or animal body by therapy.

45 36. A compound according to any one of claims 1 to 29 for use in a method of raising HDL of the human or animal body by therapy.

50 37. Use of a compound according to any one of claims 1 to 29 for the manufacture of a medicament for use in the treatment of a metabolic-related disorder.

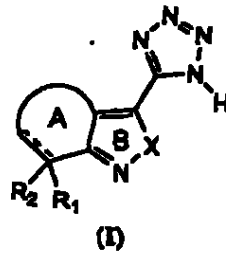
38. Use of a compound according to any one of claims 1 to 29 for the manufacture of a medicament for use in the treatment of a metabolic-related disorder selected from: dyslipidemia, atherosclerosis, coronary heart disease, insulin resistance, and type 2 diabetes.

55 39. Use of a compound according to any one of claims 1 to 29 for the manufacture of a medicament for use in the treatment of atherosclerosis.

40. Use of a compound according to any one of claims 1 to 20 for the manufacture of a medicament for use in raising HDL in an individual.

5 Patentansprüche

1. Verbindung der Formel (I):



20 worin:

X NH oder O ist;
R₁ ausgewählt ist aus:

- 25
- 30
- 35
- 40
- 45
- H,
 - Halogen,
 - Hydroxy,
 - Thioxy,
 - Cyano,
 - Nitro,
 - C₁₋₄-Halogenalkyl,
 - Amino,
 - C₁₋₄-Alkylamino,
 - C₂₋₈-Dialkylamino,
 - C₁₋₄-Alkyl,
 - C₁₋₄-Alkoxy,
 - C₂₋₄-Alkanyl,
 - C₂₋₄-Alkynyl,
 - C₃₋₅-Cycloalkyl,
 - C₁₋₄-Halogenalkoxy,
 - C₁₋₄-Alkylthio,
 - C₁₋₄-Alkylsulfinyl,
 - C₁₋₄-Alkylsulfonyl,
 - C₁₋₄-Halogenalkylthio,
 - C₁₋₄-Halogenalkylsulfinyl und
 - C₁₋₄-Halogenalkylsulfonyl;

R₂ ausgewählt ist aus:

- 50
- 55
- H,
 - Halogen,
 - Hydroxy,
 - Thioxy,
 - Cyano,
 - Nitro,
 - C₁₋₄-Halogenalkyl,
 - Amino,
 - C₁₋₄-Alkylamino,

C₂₋₆-Dialkylamino,
 C₁₋₄-Alkyl,
 C₁₋₄-Alkoxy,
 C₂₋₄-Alkenyl,
 C₂₋₄-Alkynyl,
 C₃₋₅-Cycloalkyl,
 C₁₋₄-Halogenalkoxy,
 C₁₋₄-Alkylthio,
 C₁₋₄-Alkylsulfinyl,
 C₁₋₄-Alkylsulfonyl,
 C₁₋₄-Halogenalkylthio,
 C₁₋₄-Halogenalkylsulfinyl und
 C₁₋₄-Halogenalkylsulfonyl;

oder R₂ fehlt;

== eine Einfachbindung ist, wenn R₂ vorhanden ist, oder

== eine Doppelbindung ist, wenn R₂ fehlt; und

der Ring A ein 5-gliedriger carbozyklischer Ring oder ein 5-gliedriger heterozyklischer Ring ist,

wobei "5-gliedriger carbozyklischer Ring" einen Ring mit 5 Ringkohlenstoffbezeichnungen bezeichnet, worin zwei Ringkohlenstoffe von den Ringen A und B geteilt werden, und

wobei "5-gliedriger heterozyklischer Ring" einen 5-gliedrigen carbozyklischen Ring bezeichnet, worin 1, 2 oder 3 Ringkohlenstoffe, die nicht von den Ringen A und B geteilt werden, unabhängig voneinander durch -O-, -S-, -S(O)- oder -S(O)₂- ersetzt sind, und

worin der Ring A gegebenenfalls mit 1 bis 4 aus folgenden ausgewählten Substituenten substituiert ist:

Halogen,
 Hydroxy,
 Thioxy,
 Cyano,
 Nitro,
 C₁₋₄-Halogenalkyl,
 Amino,
 C₁₋₄-Alkylamino,
 C₂₋₆-Dialkylamino,
 C₁₋₄-Alkyl,
 C₁₋₄-Alkoxy,
 C₂₋₄-Alkenyl,
 C₂₋₄-Alkynyl,
 C₃₋₅-Cycloalkyl,
 C₁₋₄-Halogenalkoxy,
 C₁₋₄-Alkylthio,
 C₁₋₄-Alkylsulfinyl,
 C₁₋₄-Alkylsulfonyl,
 C₁₋₄-Halogenalkylthio,
 C₁₋₄-Halogenalkylsulfinyl und
 C₁₋₄-Halogenalkylsulfonyl;

oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz, Solvat oder Hydrat davon.

2. Verbindung nach Anspruch 1, worin der Ring A ein 5-gliedriger carbozyklischer Ring ist.
3. Verbindung nach Anspruch 1, worin der Ring A ein 5-gliedriger heterozyklischer Ring ist.
4. Verbindung nach Anspruch 1, worin der Ring A ein 5-gliedriger heterozyklischer Ring ist, worin "5-gliedriger heterozyklischer Ring" einen 5-gliedrigen carbozyklischen Ring bezeichnet, worin 1 Ringatom, das nicht von den Ringen A und B geteilt wird, unabhängig durch -O-, -S-, -S(O)- oder -S(O)₂- ersetzt ist.
5. Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, worin:

325

X NH ist;

R₁ H oder Hydroxy ist;

R₂ H ist oder fehlt;

== eine Einfachbindung ist, wenn R₂ H ist, oder

== eine Doppelbindung ist, wenn R₂ fehlt; und

der Ring A ein 5-gliedriger carbocyclischer Ring oder ein 5-gliedriger heterozyklischer Ring ist, der gegebenenfalls mit 1 bis 4 aus folgenden ausgewählten Substituenten substituiert ist:

Halogen

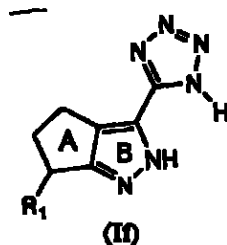
C₁₋₄-Alkyl,

C₁₋₄-Alkoxy und

C₃₋₅-Cycloalkyl;

oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz, Solvat oder Hydrat davon.

6. Verbindung nach Anspruch 1 oder 2 der Formel (If):



worin:

R₁ H oder Hydroxy ist; und

der Ring A gegebenenfalls mit 1 oder 2 aus folgenden ausgewählten Substituenten substituiert ist:

Halogen,

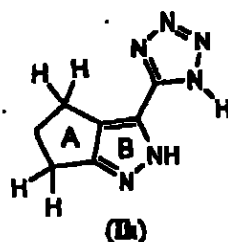
C₁₋₄-Alkyl,

C₁₋₄-Alkoxy und

C₃₋₅-Cycloalkyl;

oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz, Solvat oder Hydrat davon.

7. Verbindung nach Anspruch 1 oder 2 der Formel (Ih):



worin:

der Ring A gegebenenfalls mit 1 oder 2 aus folgenden ausgewählten Substituenten substituiert ist:

Halogen,

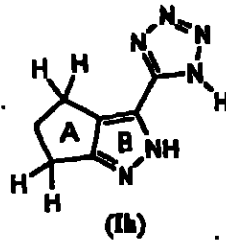
C₁₋₄-Alkyl,

326

C₁₋₄-Alkoxy und
C₃₋₆-Cycloalkyl;

oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz, Solvat oder Hydrat davon.

8. Verbindung nach Anspruch 1 oder 2 der Formel (Ih):

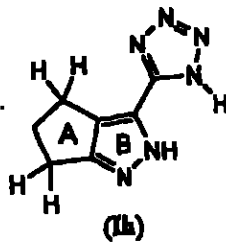


worin:

der Ring A unsubstituiert oder mit Ethyl substituiert ist;

oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz, Solvat oder Hydrat davon.

9. Verbindung nach Anspruch 1 oder 2 der Formel (Ih):



worin:

der Ring A mit 1 oder 2 aus folgenden ausgewählten Substituenten substituiert ist:

Halogen,
n-Propyl,
n-Butyl,
C₁₋₄-Alkoxy und
C₃₋₆-Cycloalkyl;

oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz, Solvat oder Hydrat davon.

10. Verbindung nach Anspruch 1, die 3-(1H-Tetrazol-5-yl)-2,4,5,6-tetrahydrocyclopentapyrazol ist, oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz, Solvat oder Hydrat davon.

11. Verbindung nach Anspruch 1, die 3-(1H-Tetrazol-5-yl)-2,6-dihydro-4H-thieno-[3,4-c]pyrazol ist, oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz, Solvat oder Hydrat davon.

12. Verbindung nach Anspruch 1, die 6-Methyl-3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,6-dihydro-4H-furo[3,4-c]pyrazol ist, oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz, Solvat oder Hydrat davon.

13. Verbindung nach Anspruch 1, die 3-(1H-Tetrazol-5-yl)-2,4-dihydrocyclopentapyrazol ist, oder ein pharmazeutisch

327

annehmbares Salz, Solvat oder Hydrat davon.

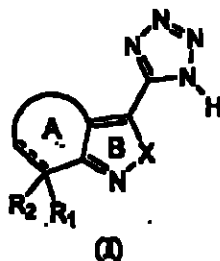
14. Verbindung nach Anspruch 1, die 3-(1H-Tetrazol-5-yl)-2,6-dihydrocyclopentapyrazol ist, oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz, Solvat oder Hydrat davon.
5
15. Verbindung nach Anspruch 1, die 3-(1H-Tetrazol-5-yl)-2,6-dihydro-4H-furo[3,4-c]pyrazol ist, oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz, Solvat oder Hydrat davon.
16. Verbindung nach Anspruch 1, die 5-Ethyl-3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,4,5,6-tetrahydrocyclopentapyrazol ist, oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz, Solvat oder Hydrat davon.
10
17. Verbindung nach Anspruch 1, die 5-Butyl-3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,4,5,6-tetrahydrocyclopentapyrazol ist, oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz, Solvat oder Hydrat davon.
18. Verbindung nach Anspruch 1, die 5-Methyl-3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,6-dihydrocyclopentapyrazol ist, oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz, Solvat oder Hydrat davon.
15
19. Verbindung nach Anspruch 1, die 5-Methyl-3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,4-dihydrocyclopentapyrazol ist, oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz, Solvat oder Hydrat davon.
20
20. Verbindung nach Anspruch 1, die 5-Propyl-3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,4,5,6-tetrahydrocyclopentapyrazol ist, oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz, Solvat oder Hydrat davon.
21. Verbindung nach Anspruch 1, die 5-Propoxy-3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,4,5,6-tetrahydrocyclopentapyrazol ist, oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz, Solvat oder Hydrat davon.
25
22. Verbindung nach Anspruch 1, die 5-Cyclopentyl-3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,4,5,6-tetrahydrocyclopentapyrazol ist, oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz, Solvat oder Hydrat davon.
23. Verbindung nach Anspruch 1, die 5-Fluor-3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,4,5,6-tetrahydrocyclopentapyrazol ist, oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz, Solvat oder Hydrat davon.
30
24. Verbindung nach Anspruch 1, die 5-Isobutoxy-3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,4,5,6-tetrahydrocyclopentapyrazol ist, oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz, Solvat oder Hydrat davon.
35
25. Verbindung nach Anspruch 1, die 5-Butoxy-3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,4,5,6-tetrahydrocyclopentapyrazol ist, oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz, Solvat oder Hydrat davon.
26. Verbindung nach Anspruch 1, die 3-(1H-Tetrazol-5-yl)-2,4,5,6-tetrahydrocyclopentapyrazol-6-ol ist, oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz, Solvat oder Hydrat davon.
40
27. Verbindung nach Anspruch 1, die 5-Methoxy-3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,4,5,6-tetrahydrocyclopentapyrazol ist, oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz, Solvat oder Hydrat davon.
28. Verbindung nach Anspruch 1, die 5,5-Difluor-3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,4,5,6-tetrahydrocyclopentapyrazol ist, oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz, Solvat oder Hydrat davon.
45
29. Verbindung nach Anspruch 1, die 5-Ethoxy-3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,4,5,6-tetrahydrocyclopentapyrazol ist, oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz, Solvat oder Hydrat davon.
50
30. Pharmazeutische Zusammensetzung, eine Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 29 in Kombination mit einem pharmazeutisch annehmbaren Träger umfassend.
31. Verfahren zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung, das Vermischen einer Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 29 und eines pharmazeutisch annehmbaren Trägers umfassend.
55
32. Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 29 zur Verwendung in einem Verfahren zur Behandlung des Körpers eines Menschen oder Tiers durch eine Therapie.

328

33. Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 29 zur Verwendung in einem Verfahren zur Behandlung einer mit dem Stoffwechsel zusammenhängenden Erkrankung des Körpers des Menschen oder Tiers durch eine Therapie.
34. Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 29 zur Verwendung in einem Verfahren zur Behandlung einer mit dem Stoffwechsel zusammenhängenden Erkrankung des Körpers des Menschen oder Tiers durch eine Therapie, worin die mit dem Stoffwechsel zusammenhängende Erkrankung ausgewählt ist aus: Dyslipidämie, Atherosklerose, koronaren Herzkrankheiten, Insulinresistenz und Typ-2-Diabetes.
35. Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 29 zur Verwendung in einem Verfahren zur Behandlung von Atherosklerose des Körpers des Menschen oder Tiers durch eine Therapie.
36. Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 29 zur Verwendung in einem Verfahren zur Erhöhung von HDL im Körper des Menschen oder Tiers durch eine Therapie.
37. Verwendung einer Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 29 zur Herstellung eines Medikaments zur Verwendung bei der Behandlung einer mit dem Stoffwechsel zusammenhängenden Erkrankung.
38. Verwendung einer Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 29 zur Herstellung eines Medikaments zur Verwendung bei der Behandlung einer mit dem Stoffwechsel zusammenhängenden Krankheit ausgewählt aus: Dyslipidämie, Atherosklerose, koronaren Herzkrankheiten, Insulinresistenz und Typ-2-Diabetes.
39. Verwendung einer Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 29 zur Herstellung eines Medikaments zur Verwendung bei der Behandlung von Atherosklerose.
40. Verwendung einer Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 29 zur Herstellung eines Medikaments zur Verwendung bei der Erhöhung von HDL in einem Subjekt.

Revendications

1. Composé de la formule (I):



où:

X est NH ou O;
R₁ est sélectionné parmi:

H,
halogène,
hydroxy,
thioxy,
cyano,
nitro,
haloalkyle C₁₋₄,
amino,
alkylamino C₁₋₄.

32^a

5 dialkylamino C₂₋₈,
alkyle C₁₋₄,
alkoxy C₁₋₄,
alcényle C₂₋₄,
alkynyle C₂₋₄,
cycloalkyle C₃₋₆,
haloalkoxy C₁₋₄,
alkylthio C₁₋₄,
alkylsulfinyle C₁₋₄,
10 alkylsulfonyle C₁₋₄,
haloalkylthio C₁₋₄,
haloalkylsulfinyle C₁₋₄, et
haloalkylsulfonyle C₁₋₄;

15 R₂ est sélectionné parmi:

20 H,
halogène,
hydroxy,
thioxy,
cyano,
nitro,
haloalkyle C₁₋₄,
amino,
25 alkylamino C₁₋₄,
dialkylamino C₂₋₈,
alkyle C₁₋₄,
alkoxy C₁₋₄,
alcényle C₂₋₄,
30 alkynyle C₂₋₄,
cycloalkyle C₃₋₆,
haloalkoxy C₁₋₄,
alkylthio C₁₋₄,
alkylsulfinyle C₁₋₄,
35 alkylsulfonyle C₁₋₄,
haloalkylthio C₁₋₄,
haloalkylsulfinyle C₁₋₄, et
haloalkylsulfonyle C₁₋₄;

40 ou bien R₂ est absent;

— est une simple liaison quand R₂ est présent, ou

— est une double liaison quand R₂ est absent; et

le Cycle A est un cycle carbocyclique à 5 membres ou un cycle hétérocyclique à 5 membres,

45 où "cycle carbocyclique à 5 membres" désigne un cycle contenant 5 carbones dans le cycle où deux carbones du cycle sont partagés par les Cycles A et B, et

où "cycle hétérocyclique à 5 membres" désigne un cycle carbocyclique à 5 membres où 1, 2 ou 3 atomes du cycle non partagés par les Cycles A et B sont indépendamment remplacés par -O-, -S-, -S(O)-, ou -S(O)₂-, et où le Cycle A est facultativement substitué par 1 à 4 substituants sélectionnés parmi:

50 halogène,
hydroxy,
thioxy,
cyano,
nitro,
55 haloalkyle C₁₋₄,
amino,
alkylamino C₁₋₄,
dialkylamino C₂₋₈.

alkyle C₁₋₄,
 alcoxy C₁₋₄,
 alcényle C₂₋₄,
 alkynyle C₂₋₄,
 cycloalkyle C₃₋₅,
 haloalcoxy C₁₋₄,
 alkylthio C₁₋₄,
 alkylsulfinyle C₁₋₄,
 alkylsulfonyle C₁₋₄,
 haloalkylthio C₁₋₄,
 haloalkylsulfinyle C₁₋₄, et
 haloalkylsulfonyle C₁₋₄;

ou un sel, solvate ou hydrate pharmaceutiquement acceptables.

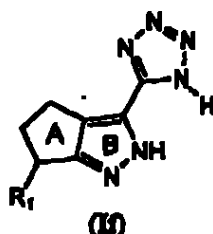
2. Composé selon la revendication 1, où le Cycle A est un cycle carbocyclique à 5 membres.
3. Composé selon la revendication 1, où le Cycle A est un cycle hétérocyclique à 5 membres.
4. Composé selon la revendication 1, où le Cycle A est un cycle hétérocyclique à 5 membres, où "cycle hétérocyclique à 5 membres" désigne un cycle carbocyclique à 5 membres où 1 atome du cycle non partagé par les Cycles A et B est indépendamment remplacé par -O-, -S-, -S(O)-, ou -S(O)₂-.
5. Composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, où:

X est NH;
 R₁ est H ou hydroxy;
 R₂ est H ou absent;
 — est une simple liaison quand R₂ est H, ou
 — est une double liaison quand R₂ est absent; et
 le Cycle A est un cycle carbocyclique à 5 membres ou un cycle hétérocyclique à 5 membres facultativement substitué par 1 à 4 substituants sélectionnés à partir:

halogène,
 alkyle C₁₋₄,
 alcoxy C₁₋₄, et
 cycloalkyle C₃₋₅;

ou bien un sel, solvate ou hydrate pharmaceutiquement acceptables.

6. Composé selon la revendication 1 ou 2 ayant la Formule (If):



où:

R₁ est H ou hydroxy; et
 le Cycle A est facultativement substitué par 1 ou 2 substituants sélectionnés parmi:

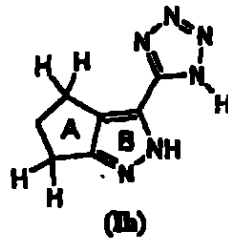
halogène,

331

alkyle C₁₋₄,
alcoxy C₁₋₄, et
cycloalkyle C₃₋₅;

ou un sel, solvate ou hydrate pharmaceutiquement acceptables.

7. Composé selon la revendication 1 ou 2 ayant la Formule (Ih):



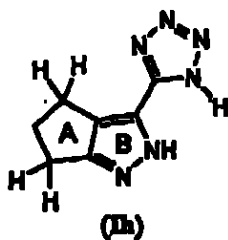
ou:

le Cycle A est facultativement substitué par 1 ou 2 substituants sélectionnés parmi:

halogène,
alkyle C₁₋₄,
alcoxy C₁₋₄, et
cycloalkyle C₃₋₅;

ou un sel, solvate ou hydrate pharmaceutiquement acceptables.

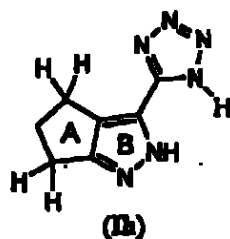
8. Composé selon la revendication 1 ou 2 ayant la Formule (Ih) :



où
le Cycle A est non substitué ou est substitué par éthyle,
ou un sel, solvate ou hydrate pharmaceutiquement acceptables.

9. Composé selon la revendication 1 ou 2 ayant la Formule (Ih):

332



où:

le Cycle A est substitué par 1 ou 2 substituants sélectionnés parmi:

halogène,
n-propyle,
n-butyle,
 alcoxy C₁₋₄, et
 cycloalkyle C₃₋₅;

ou un sel, solvate ou hydrate pharmaceutiquement acceptables.

10. Composé selon la revendication 1 qui est:

3-(1H-tétrazol-5-yl)-2,4,5,6-tétrahydrocyclopentapyrazole

ou un sel, solvate ou hydrate pharmaceutiquement acceptables.

11. Composé selon la revendication 1 qui est:

3-(1H-tétrazol-5-yl)-2,6-dihydro-4H-thiéo[3,4-c]pyrazole

ou un sel, solvate ou hydrate pharmaceutiquement acceptables.

12. Composé selon la revendication 1 qui est:

6-méthyl-3-(1H-tétrazol-5-yl)-2,6-dihydro-4H-furo[3,4-c]pyrazole

ou un sel, solvate ou hydrate pharmaceutiquement acceptables.

13. Composé selon la revendication 1 qui est:

3-(1H-tétrazol-5-yl)-2,4-dihydro-cyclopentapyrazole

ou un sel, solvate ou hydrate pharmaceutiquement acceptables.

14. Composé selon la revendication 1 qui est:

3-(1H-tétrazol-5-yl)-2,6-dihydro-cyclopentapyrazole

ou un sel, solvate ou hydrate pharmaceutiquement acceptables.

15. Composé selon la revendication 1 qui est:

3-(1H-tétrazol-5-yl)-2,6-dihydro-4H-furo[3,4-c]pyrazole

ou un sel, solvate ou hydrate pharmaceutiquement acceptables.

16. Composé selon la revendication 1 qui est:

5-éthyl-3-(1H-tétrazol-5-yl)-2,4,5,6-tétrahydrocyclopentapyrazole

ou un sel, solvate ou hydrate pharmaceutiquement acceptables.

17. Composé selon la revendication 1 qui est:

5-butyl-3-(1H-tétrazol-5-yl)-2,4,5,6-tétrahydrocyclopentapyrazole

ou un sel, solvate ou hydrate pharmaceutiquement acceptables.

18. Composé selon la revendication 1 qui est:

5-méthyl-3-(1H-tétrazol-5-yl)-2,6-dihydro-cyclopentapyrazole

ou un sel, solvate ou hydrate pharmaceutiquement acceptables.

19. Composé selon la revendication 1 qui est:

5-méthyl-3-(1H-tétrazol-5-yl)-2,4-dihydro-cyclopentapyrazole

ou un sel, solvate ou hydrate pharmaceutiquement acceptables.

20. Composé selon la revendication 1 qui est:

5-propyl-3-(1H-tétrazol-5-yl)-2,4,5,6-tétrahydrocyclopentapyrazole

ou un sel, solvate ou hydrate pharmaceutiquement acceptables.

21. Composé selon la revendication 1 qui est:

5-propoxy-3-(1H-tétrazol-5-yl)-2,4,5,6-tétrahydrocyclopentapyrazole

ou un sel, solvate ou hydrate pharmaceutiquement acceptables.

22. Composé selon la revendication 1 qui est:

5-cyclopentyl-3-(1H-tétrazol-5-yl)-2,4,5,6-tétrahydrocyclopentapyrazole

ou un sel, solvate ou hydrate pharmaceutiquement acceptables.

23. Composé selon la revendication 1 qui est:

5-fluoro-3-(1H-tétrazol-5-yl)-2,4,5,6-tétrahydrocyclopentapyrazole

ou , un sel, solvate ou hydrate pharmaceutiquement acceptables.

24. Composé selon la revendication 1 qui est:

5-isobutoxy-3-(1H-tétrazol-5-yl)-2,4,5,6-tétrahydrocyclopentapyrazole

ou un sel, solvate ou hydrate pharmaceutiquement acceptables.

25. Composé selon la revendication 1 qui est:

5-butoxy-3-(1H-tétrazol-5-yl)-2,4,5,6-tétrahydrocyclopentapyrazole

ou un sel, solvate ou hydrate pharmaceutiquement acceptables.

26. Composé selon la revendication 1 qui est:

5 3-(1H-tétrazol-5-yl)-2,4,5,6-tétrahydrocyclopentapyrazol-8-ol

ou un sel, solvate ou hydrate pharmaceutiquement acceptables.

27. Composé selon la revendication 1 qui est:

10 5-méthoxy-3-(1H-tétrazol-5-yl)-2,4,5,6-tétrahydrocyclopentapyrazole

ou un sel, solvate ou hydrate pharmaceutiquement acceptables.

15 28. Composé selon la revendication 1 qui est:

5,5-difluoro-3-(1H-tétrazol-5-yl)-2,4,5,6-tétrahydrocyclopentapyrazole

ou un sel, solvate ou hydrate pharmaceutiquement acceptables.

20 29. Composé selon la revendication 1 qui est:

5-éthoxy-3-(1H-tétrazol-5-yl)-2,4,5,6-tétrahydrocyclopentapyrazole

25 ou un sel, solvate ou hydrate pharmaceutiquement acceptables.

30. Composition pharmaceutique comprenant un composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 29 en combinaison avec un support pharmaceutiquement acceptable.

31. Méthode de production d'une composition pharmaceutique comprenant le mélange d'un composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 29 et d'un support pharmaceutiquement acceptable.

32. Composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 29 à utiliser dans une méthode de traitement du corps humain ou animal par thérapie.

33. Composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 29 à utiliser dans une méthode de traitement d'un trouble en rapport avec le métabolisme d'un corps humain ou animal, par thérapie.

34. Composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 29 à utiliser dans une méthode de traitement d'un trouble en rapport avec le métabolisme du corps humain ou animal par thérapie, où ledit trouble en rapport avec le métabolisme est sélectionné parmi: dyslipidémie, athérosclérose, maladie coronarienne du cœur, résistance à l'insuline et diabète type 2.

35. Composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 29 à utiliser dans une méthode de traitement de l'athérosclérose dans le corps humain ou animal, par thérapie.

36. Composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 29 à utiliser dans une méthode pour élever HDL du corps humain ou animal par thérapie.

37. Utilisation d'un composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 29 pour la fabrication d'un médicament à utiliser dans le traitement d'un trouble en rapport avec le métabolisme.

38. Utilisation d'un composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 29 pour la fabrication d'un médicament à utiliser dans le traitement d'un trouble ayant un rapport avec le métabolisme, sélectionné parmi: dyslipidémie, athérosclérose, maladie coronarienne du cœur, résistance à l'insuline et diabète type 2.

39. Utilisation d'un composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 29 pour la fabrication d'un médicament à utiliser dans le traitement de l'athérosclérose.

335

40. Utilisation d'un composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 29 pour la fabrication d'un médicament à utiliser pour augmenter HDL chez un individu.

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

336

Oficina Europea de Patentes

Wytenburg, Wilhelmus Johannes
Mewburn Ellis LLP
York House
23 Kingsway
Londres WC2B 6HP
GRAN BRETAÑA

Fecha: 11.05.06

Referencia:	Solicitud No./Patente No.
WJW/FP6320550	04818324.8 – 2117 / 1599469

Solicitante/Propietario
Arena Pharmaceuticals, Inc., et al

Decisión de otorgar una patente Europea según el artículo 97(2) EPC

Después del examen de la solicitud de Patente Europea No. 04818324.8, una patente Europea con el título y los documentos de soporte indicados en la comunicación, de acuerdo con la Regla 51(4) EPC de fecha 14.02.06, se otorga por medio de la presente con respecto de los Estados Contratantes designados.

Patente No.:	1599469
Decha de radicación:	29.10.04
Prioridad Reivindicada:	31.10.03/US 516238

Estados Contratantes Designados

y Propietario(s): AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR
HU IE IT LI LU MC NL PL PT RO SE SI SK TR
Arena Pharmaceuticals, Inc.
6166 Nancy Ridge Drive
San Diego, CA 92121/US

337

AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR
HU IE IT LI LU MC NL PL PT RO SE SI SK TR

Merck & Co., Inc.

126 East Lincoln Avenue

Rahway, New Jersey 07065/US

Esta decisión tendrá efecto en la fecha en la cual en Boletín de Patente Europea mencione la concesión (Art. 97(4) y (5) EPC).

La mención de la concesión se publicará en el Boletón de Patente Europea
06/23 de 07/06/06

División de Examen

Goss I

Moriggi J

Herz C

NOTA CON RELACION A LA DECISION DE CONCEDER UNA PATENTE EUROPEA (Forma EPO de 2006)

Folleto de Información de la EPO "Ley Nacional relacionada con la EPC"

Este folleto provee información útil relacionada con los requerimientos formales y los pasos a ser tomados ante las autoridades de patente de los Estados Contratantes con el fin de adquirir los derechos de aquellos estados. Como los pasos necesarios son sujetos a cambio, siempre debe usarse la última edición del folleto. La información posterior está publicada en el Diario Oficial.

Traducción de la descripción de Patente Europea bajo el Artículo 65(1) de la Convención de Patente Europea

De nuevo se llama su atención a los requerimientos en cuando a la traducción de la descripción de la patente Europea determinada por un número de Estados Contratantes bajo el artículo 65(1) EPC, a los cuales se hace referencia en la comunicación bajo la Regla 51(6). La falla en el suministro de tal(es) traducciones puede hacer que la patente sea considerada nula "ab initio" en el(los) Estados en cuestión. Para mayores detalles se recomienda consultar el folleto mencionado anteriormente.

Pago para renovación de honorarios para patentes Europeas

Bajo el artículo 141 EPC los honorarios de renovación "nacional" con respecto a una patente Europea pueden ser impuestos para los años que siguen aquel en el cual la mención de concesión de la patente Europea es publicada en el "boletín de Patente Europea". Para mayores detalles se recomienda consultar el folleto mencionado anteriormente.

Oficina Europea de Patentes

(12)

DESCRIPCION DE PATENTE EUROPEA

(45)	Fecha de publicación y mención de concesión de la patente	(51)	Cl. Int.: <i>C07D 403/04^(2006.01) C07D 493/04^(2006.01) C07D 491/04^(2006.01) A61K 31/41^(2006.01)</i>
(21)	Solicitud Número: 04816324.8	(86)	Número de solicitud Internacional: PCT/US2004/035927
(22)	Fecha de presentación: 29.10.2004	(87)	Número de Publicación Internacional: WO 2005/044816 (19.05.2005 Gaceta 2005/20)

(54) DERIVADOS DE TETRAZOL Y METODOS PARA EL TRATAMIENTO DE TRASTORNOS METABOLICOS RELACIONADOS DE LOS MISMO

(84)	Estados Contratantes Designados: AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR HU IE IT LI LU MC NL PT RO SE SI SK TR Estados de Extensión Designados: AL HR LT LV MK	* JUNG, Jae-Kyu San Diego, CA 92127 (US) * LIANG, Rui East Brunswick, NJ 08816 (US) * RAGHAVAN, Subhalekha Teaneck, NJ 07666 (US) * SCHMIDT, Darby Clark, NJ 07066 (US) * TATA, James, R. Westfield, NJ 07090 (US)
(30)	Prioridad: 31.10.2003 US 816238 P	
(43)	Fecha de publicación de solicitud: 30.11.2005 Boletín 2005/48	
(80)	Solicitud Divisional: 06005248.7	(74) Representante: Wytenburg, Wilhelmus Johannes et al Mewburn Ellis LLP York House 23 JjKongsway Londres WC2B 6HP (GB)
(73)	Propietarios • Arena Pharmaceuticals, Inc. San Diego, Ca 92121 (US) • Merck & Co., Inc. Rahway, New Jersey 07065 (US)	(56) Referencias citadas: EP-A-0 529 854 WO-A-20/04032828

(72)

Inventores:

- **SEMPLE, Graeme**
San Diego, CA 92127 (US)
- **SCHRADER, Thomas**
San Diego, CA 92122 (US)
- **SKINNER, Phillip, J.**
San Diego, CA 92107 (US)
- **COLLETTI, Steven, L.**
Princeton Junction, NJ 08550 (US)
- **GHARBAOUI, Tawfik**
Escondido, CA 92029 (US)
- **IMBRIGLIO, Jason E.**
Placataway, NJ 08854 (US)

* BAYS H ET AL: "PHARMACOTHERAPY
FOR DYSLIPIDAEMIA – CURRENT
THERAPIES AND FUTURE AGENTS
"EXPERT OPINION ON PHARMACO-
THERAPY, ASHLEY, LONDON, GB,
vol. 4, no. 11, 2003, páginas 1901-
1938, XP008027524 ISSN: 1485-6566

Observaciones:

El archivo contiene información técnica
presentada después que la solicitud fue
registrada y no está incluida en
esta descripción.

Nota: Dentro de nueve meses a partir de la publicación de la mención de concesión de la patente Europea, cualquier persona puede avisar a la Oficina de Patente Europea la oposición a la patente Europea concedida. El aviso de oposición será presentado en una declaración razonada escrita. No se considerará presentada hasta que los honorarios de oposición hayan sido pagados. (Art. 99(1) Convención de Patente Europea).

DERIVADOS DE TETRAZOL Y METODOS PARA EL TRATAMIENTO DE TRASTORNOS METABOLICOS RELACIONADOS DEL MISMO

CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se relaciona con ciertos derivados de tetrazol, y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, que muestran propiedades farmacológicas útiles, por ejemplo como agonistas para el receptor ácido nicotínico, RUP25. La presente invención también provee composiciones farmacéuticas que contienen uno o más compuestos de la invención, y los métodos para usar los compuestos y las composiciones de la invención en el tratamiento de trastornos metabólicos relacionados, incluyendo dislipidemia, aterosclerosis, enfermedad del corazón coronaria, resistencia a la insulina, diabetes tipo 2, Síndrome X y similares. Adicionalmente, la presente invención también provee el uso de los compuestos de la invención en combinación con otros agentes activos tales como aquellos que pertenecen a la clase de inhibidores α -glucosidasa, inhibidores de aldosa reductasa, biguanidas, inhibidores de HMG-CoA reductasa, inhibidores de la síntesis de escualeno, fibratos, mejoradores del catabolismo de LDL, inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (ACE), mejoradores de la secreción de insulina, tiazolidindiona y similares.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Compuestos de la Invención como Agentes Antilipolíticos

La aterosclerosis y el accidente cerebrovascular son las causas número uno y tres que conducen a la muerte tanto en hombres como en mujeres en los estados Unidos. La diabetes de tipo 2 es un problema de salud pública que es serio, generalizado y en aumento. Los niveles elevados de colesterol de lipoproteína de baja densidad (LDL) o niveles bajos de colesterol de lipoproteína de alta densidad (HDL) son, independientemente, factores de riesgo para aterosclerosis y patologías cardiovasculares asociadas. Adicionalmente, los niveles altos de ácidos grasos libres de plasma están asociados con resistencia a la insulina y diabetes tipo 2. Una estrategia para

disminuir el colesterol LDL, aumentar el colesterol HDL, y disminuir los ácidos grasos libres de plasma es inhibir la lipólisis en el tejido adiposo. Este criterio involucra la regulación de lipasa sensible a hormona, que es la enzima que limita la velocidad en la lipólisis. Los agentes lipolíticos aumentan los niveles celulares de cAMP, que conducen a la activación de lipasa sensible a hormona dentro de los adipocitos. Los agentes que disminuyen los niveles de cAMP intracelular, en contraste, serían antilipolíticos.

También vale la pena notar de paso que un aumento en los niveles celulares de cAMP regula descendientemente la secreción de adiponectina de los adipocitos [Delporte, ML et al. *Biochem J* (2002) Julio]. Los niveles reducidos de adiponectina de plasma han sido asociados con trastornos metabólicos relacionados, incluyendo aterosclerosis, enfermedad coronaria del corazón, resistencia a la insulina y diabetes tipo 2 [Matsuda, M et al. *J Biol Chem* (2002) Julio y revisión de allí].

El ácido nicotínico (niacina, ácido piridin-3-carboxílico) es una vitamina soluble en agua requerida por el cuerpo humano para salud, crecimiento y reproducción; una parte del complejo Vitamina B. El ácido nicotínico también es uno de los fármacos usados más antiguamente para el tratamiento de dislipidemia. Es un fármaco valioso porque afecta favorablemente virtualmente todos los parámetros de lípido listados anteriormente [Goodman and Gilman's Pharmacological Basis of Therapeutics, editors Harmon JG and Limbird LE, Chapter 36, Mahley RW and Bersot TP(2001) páginas 971-1002]. Los beneficios del ácido nicotínico en el tratamiento y prevención de la enfermedad cardiovascular aterosclerótica han sido documentados en seis ensayos clínicos importantes [Guyton JR(1998) *Am J Cardiol* 82 :18U-23U]. El ácido nicotínico y derivados relacionados, tales como, acipimox han sido discutidos recientemente [Lorenzen, A et al (2001) *Molecular Pharmacology* 59:349-357]. La estructura y síntesis de análogos o derivados adicionales de ácido nicotínico se discuten totalmente en el Merck Index, An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals, Tenth Edition (1983), que está incorporado aquí para referencia en su totalidad.

El ácido nicotínico inhibe la producción y liberación de ácidos grasos libres del tejido adiposo, probablemente mediante una inhibición de adeniloil

cidasa, una disminución en los niveles de cAMP intracelular, y una disminución concomitante de la actividad de lipasa sensible a hormona. Los agonistas que regulan descendientemente la actividad de lipasa sensible a hormona que conduce a una disminución en los niveles de ácido graso libre de plasma probablemente tienen valor terapéutico. La consecuencia de disminuir los ácidos grasos libres de plasma es doble. Primero, disminuirá finalmente el colesterol LDL y elevará los niveles de colesterol HDL, factores de riesgo independientes, reduciendo así el riesgo de mortalidad debido a la incidencia cardiovascular posterior a la formación de ateroma. Segundo, proveerá un aumento en la sensibilidad de insulina en individuos con resistencia a la insulina o diabetes tipo 2. Desafortunadamente, el uso de ácido nicotínico como un terapéutico está parcialmente limitado por un número de efectos adversos asociados. Estos incluyen enrojecimiento, recuperación de ácido graso libre, y toxicidad al hígado.

El desarrollo racional de agonistas novedosos del receptor de ácido nicotínico que tengan menores efectos secundarios será valioso, pero a la fecha esto ha sido obstaculizado por la inhabilidad de identificar molecularmente el receptor de ácido nicotínico. Adicionalmente, otros receptores de la misma clase pueden existir en la superficie de adipocitos y también disminuir la actividad de lipasa sensible a hormona a través de una reducción en el nivel de cAMP intracelular pero sin la producción de efectos adversos tales como enrojecimiento, representando de esta forma objetivos terapéuticos novedosos prometedores. El trabajo reciente sugiere que el ácido nicotínico actúa probablemente a través de un GPCR específico [Lorenzen A, et al.(2001) Molecular Pharmacology 59: 349-357 y revisado allí]. Trabajo adicional ha sugerido que los efectos del ácido nicotínico en macrófagos, bazo y probablemente adipocitos son mediados por este GPCR específico [Lorenzen A, et al. (2002) Biochemical Pharmacology 64: 645-648 y revisión de allí].

RESUMEN DE LA INVENCION

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



en donde:

X es NH ó O;

R₁ se selecciona del grupo que consiste de H, halógeno, hidroxí, tioxi, ciano, nitro, haloalquilo C₁₋₄, amino, alquilamino C₁₋₄, dialquilamino C₂₋₈, alquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₄, alquenilo C₂₋₄, alquinilo C₂₋₄, cicloalquilo C₃₋₅, haloalcoxi C₁₋₄, alquiltio C₁₋₄, alquilC₁₋₄sulfinilo, alquilC₁₋₄sulfonilo, haloalquilC₁₋₄tio, haloalquilC₁₋₄sulfinilo y haloalquilC₁₋₄sulfonilo;

R₂ se selecciona del grupo que consiste de H, halógeno, hidroxí, tioxi, ciano, nitro, haloalquilo C₁₋₄, amino, alquilamino C₁₋₄, dialquilamino C₂₋₈, alquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₄, alquenilo C₂₋₄, alquinilo C₂₋₄, cicloalquilo C₃₋₅, haloalcoxi C₁₋₄, alquiltio C₁₋₄, alquilC₁₋₄sulfinilo, alquilC₁₋₄sulfonilo, haloalquilC₁₋₄tio, haloalquilC₁₋₄sulfinilo y haloalquilC₁₋₄sulfonilo; o R₂ está ausente;

-- es un enlace sencillo cuando R₂ está presente, o = es un enlace doble cuando R₂ está ausente; y

El anillo A es un anillo carbocíclico de 5 miembros o un anillo heterocíclico de 5 miembros opcionalmente sustituido con 1 a 4 sustituyentes seleccionados del grupo que consiste de halógeno, hidroxí, tioxi, ciano, nitro, haloalquilo C₁₋₄, amino, alquilamino C₁₋₄, dialquilamino C₂₋₈, alquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₄, alquenilo C₂₋₄, alquinilo C₂₋₄, cicloalquilo C₃₋₅, haloalcoxi C₁₋₄, alquiltio C₁₋₄, alquilC₁₋₄sulfinilo, alquilC₁₋₄sulfonilo, haloalquilC₁₋₄tio, haloalquilC₁₋₄sulfinilo y haloalquilC₁₋₄sulfonilo;

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

Un aspecto de la presente invención abarca composiciones farmacéuticas que comprenden al menos un compuesto de acuerdo con la Fórmula (I), como se describe aquí.

En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende además uno o más agentes seleccionados del grupo que consiste de un inhibidor de α -glucosidasa, inhibidor de aldosa reductasa, biguanida, inhibidor de reductasa HMG-CoA, inhibidor de la síntesis de escualeno, fibrato, mejorador del catabolismo LDL, inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina, mejorador de la secreción de insulina y tiazolidindiona.

También se describen aquí métodos para el tratamiento de un trastorno relacionado metabólico que comprende administrar a un individuo en necesidad de tal tratamiento, una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de acuerdo con la Fórmula (I), como se describe aquí, o una composición farmacéutica del mismo.

También se describen aquí los métodos para modular un receptor RUP25, que comprende contactar el receptor con un compuesto de acuerdo con la Fórmula (I), como se describe aquí.

También se describen aquí los métodos para modular un receptor RUP25 para el tratamiento de un trastorno metabólico relacionado en un individuo en necesidad de tal modulación, que comprende contactar dicho receptor con una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de acuerdo con la Fórmula (I), como se describe aquí.

También se describen aquí los métodos para elevar el HDL en un individuo, que comprende administrar al individuo una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de acuerdo con la Fórmula (I), como se describió aquí.

Un aspecto de la presente invención se relaciona con un compuesto de Formula (I), como se describe aquí, para uso en un método de tratamiento del cuerpo humano o animal mediante terapia.

Un aspecto de la presente invención se relaciona con un compuesto de Formula (I), como se describe aquí, para uso en un método de tratamiento de un trastorno metabólico relacionado del cuerpo humano o animal mediante terapia.

Un aspecto de la presente invención se relaciona con el uso de compuestos de Formula (I), como se describe aquí, para la fabricación de un medicamento para uso en el tratamiento de un trastorno metabólico relacionado.

En algunas realizaciones de la presente invención, el trastorno metabólico relacionado es del grupo que consiste de dislipidemia, aterosclerosis, enfermedad cardíaca coronaria, resistencia a la insulina, obesidad, tolerancia a la glucosa deteriorada, enfermedad ateromatosa, hipertensión, accidente cerebrovascular, Síndrome X, enfermedad cardíaca y diabetes tipo 2. En algunas realizaciones el trastorno metabólico relacionado es dislipidemia, aterosclerosis, enfermedad cardíaca coronaria, resistencia a la insulina y diabetes tipo 2. En algunas realizaciones el trastorno metabólico relacionado es dislipidemia. En algunas realizaciones el trastorno metabólico relacionado es aterosclerosis. En algunas realizaciones el trastorno metabólico relacionado es enfermedad cardíaca coronaria. En algunas realizaciones el trastorno metabólico relacionado es resistencia a la insulina. En algunas realizaciones el trastorno metabólico relacionado es diabetes tipo 2.

Un aspecto de la presente invención abarca un método para producir una composición farmacéutica que comprende mezclar al menos un compuesto de acuerdo con la Formula (I), como se describe aquí, y un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable.

Estos y otros aspectos de la invención revelados aquí se indicarán en más detalle en la medida en que la revelación de la patente transcurre.

12
341

DESCRIPCION DETALLADA DE LA INVENCION

La literatura científica ha adoptado un número de términos, para consistencia y claridad, se usarán las siguientes definiciones a lo largo de este documento de patente.

AGONISTAS significarán mitades que interactuan y activan el receptor, tal como el receptor RUP25 e inicia una respuesta fisiológica o farmacológica característica de ese receptor. Por ejemplo, cuando las mitades activan la respuesta intracelular al enlace al receptor, o mejoran el enlace GTP a las membranas.

Las **ABREVIATURAS DE AMINO ACIDO** usadas aquí se indicant en la TABLA 1:

TABLA 1		
ALANINA	ALA	A
ARGININA	ARG	R
ASPARAGTNE	ASN	N
ÁCIDO ASPARTICO	ASP	D
CISTEINA	CYS	C
ÁCIDO GLUTAMICO	GLU	E
GLUTAMINA	GLN	Q
GLICINA	GLY	G
HISTIDINA	HIS	H
ISOLEUCINA	ILE	I
LEUCINA	LEU	L
LISINA	LYS	K
METIONINA	MET	M
FENILALANINA	PHE	F
PROLINA	PRO	P
SERINA	SER	S
TREONINA	THR	T
TRIPTOFAN	TRP	T
TIROSINA	TYR	Y

VALINA	VAL	V
--------	-----	---

El término **ANTAGONISTAS** significa mitades que se enlazan cometitivamente al receptor en el mismo sitio que los agonistas (por ejemplo, el ligando endógeno), pero que no activan la respuesta intracelular iniciada por la forma activa del receptor, y que pueden así inhibir las respuestas intracelulares de los agonistas o agonistas parciales. Los antagonistas no disminuyen la respuesta intracelular de línea de base en ausencia de un agonista o agonista parcial.

ATEROSCLEROSIS pretende abarcar aquí trastornos de arterias de tamaño grande y mediano que producen la acumulación progresiva dentro de la intimidad de las células de músculo liso y lípidos.

GRUPO, MITAD O RADICAL QUÍMICO:

El término "**aciloC₁₋₄**" denota un radical alquilo C₁₋₄ unidos a un carbonilo, en donde la definición de alquilo tiene la misma definición descrita aquí; algunos ejemplos incluyen pero no se limitan a, acetilo, propionilo, n-butanoilo, iso-butanoilo, sec-butanoilo, t-butanoilo (i.e., pivaloilo), pentanol y similares.

El término "**aciloxiC₁₋₄**" denota un radical acilo unido a un átomo de oxígeno, en donde el acilo tiene la misma definición descrita aquí; algunos ejemplos incluyen pero no se limitan a acetiloxi, propioniloxi, butanoiloxi, iso-butanoiloxi, sec-butanoiloxi, t-butanoiloxi y similares.

El término "**alquenilloC₂₋₄**" denota un radical que contiene 2 a 4 carbonos en donde al menos un enlace doble carbono-carbono está presente, algunas realizaciones son 2 a 3 carbonos, y algunas realizaciones tienen 2 carbonos. Ambos isómeros E y Z están abarcadas por el término "**alquenillo**". Adicionalmente, el término "**alquenillo**" incluye di-enos. En consecuencia, si más de un enlace doble está presente, entonces los enlaces pueden ser todos los E o Z o una mezcla de E y Z. Ejemplos de un alquenilo incluyen

vinilo, propenilo, alilo, isopropenilo, 2-metil-propenil]-metilo-propenilo, but-1-enilo, but-2-enilo, but-3-enilo, buta-1,3-dienilo, y similares.

El término "alcoxiC₁₋₄" denota un radical alquilo, como se define aquí, unido directamente a un átomo de oxígeno. Ejemplos incluyen metoxi, etoxi, n-propoxi, iso-propoxi, n-butoxi, t-butoxi, iso-butoxi, sec-butoxi y similares.

El término "alquilo C₁₋₄" denota un radical carbono lineal o ramificado que contiene el número de carbonos como se indican, para ejemplos; en algunas realizaciones, alquilo es un "alquilo C₁₋₄" y el grupo contiene 1 a 4 carbonos. En algunas realizaciones alquilo contiene 1 a 13 carbonos, algunas realizaciones contienen 1 a 2 carbonos, algunas realizaciones contienen 1 carbono. Ejemplos de un alquilo incluyen, pero no se limitan a, metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo, iso-butilo, t-butilo, sec-butilo, y similares.

El término "alquiliC₁₋₄sulfinilo" denota un radical alquilo C₁₋₄ unidos a un radical sulfóxido de la fórmula: -S(O)-, en donde el radical alquilo tiene la misma definición descrita aquí. Ejemplos incluyen, pero no se limitan a, metilsulfinilo, etilsulfinilo, n-propilsulfinilo, iso-propilsulfinilo, n-butilsulfinilo, sec-butilsulfinilo, iso-butilsulfinilo, t-butilo, y similares.

El término "alquiliC₁₋₄sulfonilo" denota un radical alquilo C₁₋₄ unido a un radical sulfona de la fórmula: -S(O)₂- en donde el radical alquilo tiene la misma definición descrita aquí. Ejemplos incluyen, pero no se limitan a, metilsulfonilo, etilsulfonilo, n-propilsulfonilo, iso-propilsulfonilo, n-butilsulfonilo, sec-butilsulfonilo, iso-butilsulfonilo, t-butilsulfonilo, y similares.

El término "alquiliC₁₋₄tio" denota un radical alquilo C₁₋₄ unido a un grupo sulfuro de la fórmula: -S- en donde el radical alquilo tiene la misma definición descrita aquí. Ejemplos incluyen, pero no se limitan a, metilosulfanilo (i.e., CH₃S-), etilsulfanilo, n-propilsulfanilo, iso-propilsulfanilo, n-butilsulfanilo, sec-butilsulfanilo, iso-butilsulfanilo, t-butilo, y similares.

El término "alquiniloC₂₋₄" denota un radical que contiene 2 a 4 carbonos y al menos un enlace triple carbono-carbono, algunas realizaciones son 2 a 3 carbonos, y algunas realizaciones tienen 2 carbonos. Ejemplos de un

alquinilo incluyen, pero no se limitan a, etinilo, prop-1-inilo, 3-prop-2-inilo, but-1-inilo, 1-metil-prop-2-inilo, buta-1,3-dilnilo, y similares. El término "alquinilo" incluye di-inos.

El término "amino" denota el grupo -NH_2 .

El término "alquillamino C_{1-4} " denota un radical alquilo unido a un radical amino en donde el radical alquilo tiene el mismo significado descrito aquí. Algunos ejemplos incluyen, pero no se limitan a, metilamino, etiloamino, n-propiloamino, iso-propilamino, n-butilamino, sec-butilamino, iso-butilamino, t-butilamino, y similares. Algunas realizaciones son "alquillamino C_{1-2} ".

El término "arilo" denota un radical de anillo aromático que contiene 6 a 10 carbonos de anillo. Ejemplos incluyen fenilo y naftilo.

El término "carbo-alcoxil C_{1-4} " denota un alquil C_{1-4} éster de un ácido carboxílico, en donde el grupo alquilo es como se define aquí. Ejemplos incluyen, pero no se limitan a, carbometoxi, carboetoxi, carbopropoxi, carboisopropoxi, carbobutoxi, carbo-sec-butoxi, carbo-iso-butoxi, carbo-t-butoxi, y similares.

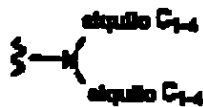
El término "carboxamida" se refiere al grupo -CONH_2 .

El término "carboxil" o "carboxilo" denota el grupo $\text{-CO}_2\text{H}$; también referido como un grupo ácido carboxílico.

El término "ciano" denota el grupo -CN .

El término "cicloalquilo C_{3-5} " denota un radical de anillo saturado que contiene 3 a 5 carbonos; algunas realizaciones contienen 3 a 5 carbonos; algunas realizaciones contienen 3 a 4 carbonos. Ejemplos incluyen, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo.

El término "dialquillamino C_{2-8} " denota un amino sustituido con dos radicales alquilo iguales o diferentes, en donde el radical alquilo tiene la misma definición descrita aquí. Un dialquilamino C_{2-8} puede estar representado por los siguientes grupos:



Ejemplos de dialquilamino C_{2-8} incluyen, pero no se limitan a, dimetilamino, metiletilamino, dietilamino, metilpropilamino, metilisopropilamino, y similares.

El término "haloalcoxi C_{1-4} " denota un haloalquilo, como se define aquí, que está directamente unido a un átomo de oxígeno. Ejemplos incluyen, pero no se limitan a, difluorometoxi, trifluorometoxi, 2,2,2-trifluoroetoxi, pentafluoroetoxi y similares.

El término "haloalcoxi C_{1-4} " denota un grupo alquilo en donde el alquilo está sustituido con halógeno que varía de uno a totalmente sustituido, en donde un haloalquilo totalmente sustituido puede estar representado por la fórmula C_nL_{2n+1} , en donde L es un halógeno y "h" representa el número de átomos de carbono; cuando más de un halógeno está presente, entonces los halógenos pueden ser iguales o diferentes y seleccionados del grupo que consiste de F, Cl, Br y I; se entiende que los términos "alquilo" y "halógeno" tienen la misma definición encontrada aquí. En algunas realizaciones, haloalquilo es un "haloalquilo C_{1-4} " y el grupo contiene 1 a 4 carbonos, algunas realizaciones contienen 1 a 3 carbonos, algunas realizaciones contienen 1 a 2 carbonos, algunas realizaciones contienen 1 carbono. Cuando el haloalquilo está totalmente sustituido con átomos de halógeno, este grupo es referido como un perhaloalquilo, un ejemplo, es un alquilo totalmente sustituido con átomos de flúor y es referido aquí como un "perfluoroalquilo". En algunas realizaciones, ejemplos de un haloalquilo incluyen, pero no se limitan a, difluorometilo, fluorometilo, 2,2,2-trifluoro-etilo, 2,2-difluoro-etilo, 2-fluoro-etilo, 1,2,2-trifluoro-etilo, 1,2-difluoro-etilo, 1,1-difluoro-etilo, 1,1,2-trifluoro-etilo, 3,3,3-trifluoro-propilo, 2,2-difluoro-propilo, 3,3-difluoro-propilo, 3-fluoro-propilo, 2,3,3-trifluoro-propilo, 2,3-difluoro-propilo, 2,2,3,3,3-pentafluoro-propilo, 2,2,3,3-tetrafluoro-propilo, 2,2,3-trifluoro-propilo, 1,2,3,3-tetrafluoro-propilo, 1,2,3-trifluoro-propilo, 3,3-difluoro-propilo, 1,2,2,3-tetrafluoro-propilo, 4,4-difluoro-butilo, 3,3-difluoro-butilo, 4,4,4-trifluoro-butilo, 3,3-difluoro-butilo, y similares. En algunas realizaciones, ejemplos de un perfluoroalquilo incluyen, pero no se limitan a, trifluorometilo,

pentafluoroetilo, heptafluoropropilo, 1,2,2,2-tetrafluoro-1-trifluorometil-etilo, y similares.

El término "haloalquilC₁₋₄sulfinilo" denota un radical haloalquilo unido a un grupo sulfóxido de la fórmula: -S(O)- en donde el radical haloalquilo tiene la misma definición descrita aquí.

El término "haloalquilC₁₋₄sulfonilo" denota un radical haloalquilo unido a un grupo sulfona de la fórmula: -S(O)₂- en donde haloalquilo tiene la misma definición descrita aquí.

El término "haloalquilC₁₋₄tio" denota un radical haloalquilo unido directamente a un átomo de azufre en donde el haloalquilo tiene el mismo significado descrito aquí.

El término "halógeno" o "halo" denota un grupo fluoro, cloro, bromo o yodo.

El término "hidroxilo" denota el grupo -OH.

El término "nitro" denota el grupo -NO₂.

El término "tioxi" denota el grupo -SH.

La sigla DMF denota dimetilformamida.

La sigla DMSO denota dimetilsulfóxido.

La sigla THF denota tetrahidrofurano.

La sigla DCM denota diclorometano.

La sigla Hex denota hexanos.

La sigla TBDMS denota ter-butildimetilsililo.

La sigla PTSA denota ácido para-toluensulfónico.

La sigla **LDA** denota **diisopropilamida de litio**.

La sigla **LHMDS** denota **hexametildisilazano de litio**.

La sigla **TFA** denota **ácido trifluoroacético**.

La sigla **EDC** denota **clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodimida**.

La sigla **dppf** denota **1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno**.

El término **CODÓN** significa un grupo de tres nucleótidos (o equivalentes a nucleótidos) que comprende generalmente un nucleósido (adenosin (A), guanosina (G), citidina (C), uridina (U) y timidina (T)) acoplados a un grupo fosfato y que, cuando son trasladados, codifican un amino ácido.

El término **COMPOSICIÓN** significa un material que comprende al menos dos compuestos o dos componentes; por ejemplo, y sin limitación, una composición farmacéutica es una composición que comprende un compuesto de la presente invención y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

El término **EFICACIA DEL COMPUESTO** significa una medida de la habilidad de un compuesto para inhibir o estimular la funcionalidad del receptor, según sea opuesto a la afinidad de enlace del receptor.

El término **RECEPTOR ACTIVADO CONSTITUTIVAMENTE** significa un receptor sujeto a activación de receptor constitutiva.

El término **ACTIVACION DEL RECEPTOR CONSTITUTIVA** significa la estabilización de un receptor en el estado activo por medios diferentes al enlace del receptor con su ligando endógeno o un equivalente químico del mismo.

Los términos **CONTACTO** o **QUE CONTACTA** significa poner la smitades indicadas juntas, ya sea en un sistema *in vitro* o en un sistema *in vivo*. Así,

"que contacta" un receptor RUP25 con un compuesto de la invención incluye la administración de un compuesto de la presente invención a un individuo, por ejemplo un humano, que tiene un receptor RUP25, así como, por ejemplo, introducir un compuesto de la invención en una muestra que contiene una preparación celular o más purificada que contiene un receptor RUP25.

ENFERMEDAD CARDIACA CORONARIA pretende aquí abarcar trastornos que comprenden un estrechamiento de vasos sanguíneos pequeños que suministran sangre y oxígeno al corazón. La enfermedad cardiaca coronaria causa usualmente la incorporación de material graso y placa. En la medida en que la arteria se estrecha, el flujo de sangre al corazón puede disminuirse o detenerse. La enfermedad cardiaca coronaria puede causar dolor de pecho (angina estable), falta de aliento, ataque cardíaco, u otros síntomas.

DISMINUCION se usa para referirse a una reducción en una cantidad medible y se usa sinónimamente con los términos "reducir", "disminuir", "bajar", y "decrecer".

DIABETES como se usa aquí pretende abarcar el diagnóstico usual de DIABETES hecho a partir de cualquiera de los métodos incluyendo, pero sin limitarse a, la siguiente lista: síntomas de diabetes (e. g., poliuria, polidipsia, polifagia) más niveles de glucosa del plasma eventuales mayores o iguales a 200mg/dl, en donde la glucosa del plasma eventual se define en cualquier momento del día sin importar el tiempo de consumo de la comida o bebida; niveles de glucosa del plasma de ayuno de 8 horas menores o iguales a 126 mg/dl; y niveles de glucosa del plasma mayores o iguales a 200 mg/dl 2 horas después de la administración oral de 75 g de glucosa anhidra disuelta en agua.

La frase **TRASTORNOS DEL METABOLISMO DE LIPIDO** pretende incluir aquí, pero sin limitarse a dislipidemia.

El término **DISLIPIDEMIA** pretende abarcar trastornos que comprenden cualquiera de nivel elevado de ácidos grasos libres del plasma, nivel elevado de colesterol del plasma, nivel elevado de colesterol LDL, nivel reducido de colesterol HDL, y nivel elevado de triglicéridos del plasma.

La frase **EN NECESIDAD DE TRATAMIENTO**, como se usa aquí, se refiere a un juicio hecho por un proveedor de cuidado (e.g., médico, enfermera, practicante de enfermería, etc. en el caso de humanos; veterinario en el caso de animales, incluyendo mamíferos no humanos) que un individuo o animal requiere o de cuyo tratamiento se beneficiará. Este juicio se hace con base en una variedad de factores que están en el campo de la experiencia del proveedor de cuidado, que incluye el conocimiento que el individuo está enfermo, o lo estará, como resultado de una enfermedad, condición o trastorno que es tratable por los compuestos de la invención. Adicionalmente, la frase "en necesidad de tratamiento" también se refiere a la "profilaxis" de un individuo que es el juicio hecho por el proveedor de cuidado que el individuo se enfermará. En este contexto, los compuestos de la invención se usan de una manera protectora o preventiva. En consecuencia, "en necesidad de tratamiento" se refiere al juicio del proveedor de cuidado que el individuo ya está enfermo o se enfermará, y los compuestos de la presente invención se pueden usar para aliviar, inhibir, mejorar o prevenir la enfermedad, condición o trastorno.

El término **INDIVIDUO** como se usa aquí se refiere a cualquier animal, incluyendo mamíferos, por ejemplo, ratones, ratas, otros roedores, conejos, perros, gatos, cerdo, ganado, ovejas, caballos, o primates, y en una realización, humanos.

Los términos **INHIBE** o **QUE INHIBE**, en relación con el término "respuesta" significa que una respuesta es disminuida o evitada en la presencia de un compuesto opuesto a o en ausencia del compuesto.

RESISTENCIA A LA INSULINA como se usa aquí pretende barcar el diagnóstico usual de resistencia a la insulina hecho por cualquiera de los métodos, incluyendo pero sin restringirse a: la prueba intravenosa de tolerancia a la glucosa o medida del nivel de insulina en ayuno. Es bien conocido que hay una correlación excelente entre la altura del nivel de insulina en ayuno y el grado de resistencia a la insulina. Por lo tanto, se podrían usar niveles de insulina en ayuno elevados como un marcador sustituto para la resistencia a la insulina con el fin de identificar cuales individuos con tolerancia a la glucosa normal (NGT) tienen resistencia a la

insulina. También se puede hacer un diagnóstico de resistencia a la insulina usando la prueba de pinza euglicémica.

El término **AGONISTAS INVERSOS** significan mitades que enlazan la forma endógena del receptor o a la forma activada constitutivamente del receptor, y que inhiben la respuesta intracelular de línea de base iniciada por la forma activa del receptor por debajo del nivel de base normal de actividad que es observado en la ausencia de agonistas o agonistas parciales, o disminución del enlace de GTP a las membranas. En algunas realizaciones, la respuesta intracelular de línea de base se inhibe en la presencia del agonista inverso en al menos 30%, en otras realizaciones, en al menos 50%, y aún en otras realizaciones, en al menos 75%, comparada con la respuesta de línea de base en la ausencia del agonista inverso.

El término **LIGANDO** significa una molécula endógena que se encuentra naturalmente específica para un receptor endógeno que se encuentra naturalmente.

La frase **TRASTORNOS METABÓLICOS RELACIONADOS** pretenden incluir aquí, pero no limitarse a, dislipidemia, aterosclerosis, enfermedad cardíaca coronaria, resistencia a la insulina, obesidad, tolerancia a la glucosa deteriorada, enfermedad ateromatosa, hipertensión, accidente cerebrovascular, Síndrome X, enfermedad cardíaca y diabetes tipo 2.

Como se usa aquí, los términos **MODULAR** o **QUE MODULA** se refieren a un aumento o disminución en la cantidad, calidad, respuesta o efecto de una actividad, función o molécula particular.

El término **COMPOSICIÓN FARMACÉUTICA** significa una composición para prevenir, tratar o controlar un estado de enfermedad o condición, que comprende al menos un compuesto activo, por ejemplo, un compuesto de la presente invención que incluye sales farmacéuticamente aceptables, solvatos farmacéuticamente aceptables y/o hidratos de los mismos, y al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable.

El término **VEHÍCULO o EXCIPIENTE FARMACÉUTICAMENTE ACEPTABLE** significa cualquier sustancia sustancialmente inerte usada como un diluyente o vehículo para un compuesto de la presente invención.

La frase **CANTIDAD TERAPÉUTICAMENTE EFECTIVA** como se usa aquí se refiere a la cantidad de compuesto activo o agente farmacéutico que produce la respuesta biológica o medicinal en un tejido, sistema, animal, individuo o humano que está siendo visto por un investigador, veterinario, médico u otro clínico, que incluye una o más de las siguientes:

- (1) Prevenir la enfermedad; por ejemplo, prevenir una enfermedad, condición o trastorno en un individuo que puede estar predispuesto a la enfermedad, condición o trastorno pero aún no ha experimentado o mostrado la patología o sintomatología de la enfermedad,
- (2) Inhibir la enfermedad; por ejemplo, inhibir una enfermedad, condición o trastorno en un individuo que está experimentando o mostrando la patología o sintomatología de la enfermedad, condición o trastorno (i.e., detener el desarrollo adicional de la patología y/o sintomatología), y
- (3) Mejorar la enfermedad; por ejemplo, mejorar una enfermedad, condición o trastorno en un individuo que está experimentando o mostrando la patología o sintomatología de la enfermedad, condición o trastorno (i.e., revirtiendo la patología y/o sintomatología).

COMPUESTOS DE LA INVENCION

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



en donde:

X es NH ó O;

R₁ se selecciona del grupo que consiste de H, halógeno, hidroxí, tioxi, ciano, nitro, haloalquilo C₁₋₄, amino, alquilamino C₁₋₄, dialquilamino C₂₋₈, alquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₄, alquenilo C₂₋₄, alquinilo C₂₋₄, cicloalquilo C₃₋₅, haloalcoxi C₁₋₄, alquiltio C₁₋₄, alquilC₁₋₄sulfinilo, alquilC₁₋₄sulfonilo, haloalquilC₁₋₄tio, haloalquilC₁₋₄sulfinilo y haloalquilC₁₋₄sulfonilo;

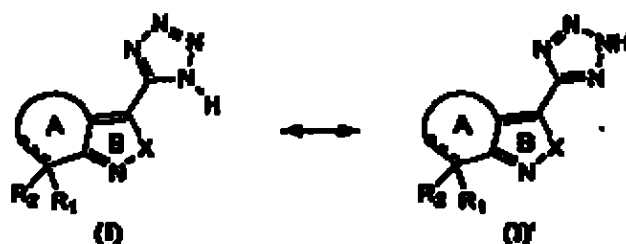
R₂ se selecciona del grupo que consiste de H, halógeno, hidroxí, tioxi, ciano, nitro, haloalquilo C₁₋₄, amino, alquilamino C₁₋₄, dialquilamino C₂₋₈, alquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₄, alquenilo C₂₋₄, alquinilo C₂₋₄, cicloalquilo C₃₋₅, haloalcoxi C₁₋₄, alquiltio C₁₋₄, alquilC₁₋₄sulfinilo, alquilC₁₋₄sulfonilo, haloalquilC₁₋₄tio, haloalquilC₁₋₄sulfinilo y haloalquilC₁₋₄sulfonilo; o R₂ está ausente;

-- es un enlace sencillo cuando R₂ está presente, o = es un enlace doble cuando R₂ está ausente; y

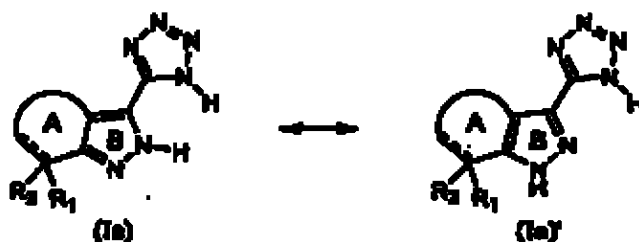
El anillo A es un anillo carbocíclico de 5 miembros o un anillo heterocíclico de 5 miembros opcionalmente sustituido con 1 a 4 sustituyentes seleccionados del grupo que consiste de halógeno, hidroxí, tioxi, ciano, nitro, haloalquilo C₁₋₄, amino, alquilamino C₁₋₄, dialquilamino C₂₋₈, alquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₄, alquenilo C₂₋₄, alquinilo C₂₋₄, cicloalquilo C₃₋₅, haloalcoxi C₁₋₄, alquiltio C₁₋₄, alquilC₁₋₄sulfinilo, alquilC₁₋₄sulfonilo, haloalquilC₁₋₄tio, haloalquilC₁₋₄sulfinilo y haloalquilC₁₋₄sulfonilo;

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

Los compuestos de la presente invención pueden existir en diferentes formas tautoméricas. Por ejemplo, es bien apreciado por los expertos en la técnica que los tetrazoles pueden existir en al menos dos formas tautoméricas y aunque la Formula (I) representa una forma, se entiende que todas las formas tautoméricas están abarcadas por la presente invención; a manera de ilustración, dos tautómeros posibles para el tetrazol en la Formula (I) se muestran a continuación:



Otro ejemplo incluye realizaciones en donde X es NH. Es bien apreciado por los expertos en la técnica que los heterociclos de pirazol pueden existir en al menos dos formas tautoméricas y aunque la Formula (I) representa una forma, se entenderá que todas las formas tautoméricas están abarcadas por la presente invención; a manera de ilustración, dos posibles tautómeros para el pirazol, en donde X es NH en la Formula (I) se muestran a continuación:



Adicionalmente, se entenderá que cuando X es NH, entonces pueden existir tautómeros para el Anillo B y también para el anillo tetrazol en combinación. Se entenderá que todos los tautómeros que pueden existir para los compuestos revelados aquí están dentro del alcance de la invención.

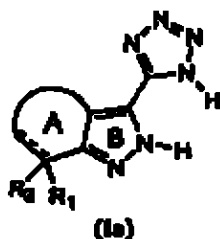
La presente invención también abarca diastereómeros así como isómeros ópticos, e.g. mezclas de enantiómeros incluyendo mezclas racémicas, así como los enantiómeros y diestereómeros individuales, que aparecen como consecuencia de la asimetría estructural en ciertos compuestos de la presente invención. En algunas realizaciones, los compuestos de la presente invención son R. En algunas realizaciones, los compuestos de la presente invención son S. En algunas realizaciones, los compuestos de la presente invención son mezclas racémicas.

Se apreciará que ciertas características de la invención, que están, para claridad, descritas en el contexto de realizaciones separadas, también

pueden proporcionarse en combinación en una sola realización. A su vez, varias características de la invención que están, por brevedad, descritas en el contexto de una sola realización, también pueden proporcionarse separadamente o en cualquier subcombinación adecuada.

Como se usa aquí, "sustituido" indica que al menos un átomo de hidrógeno del grupo químico es reemplazado por un sustituyente o grupo diferente de hidrógeno. Cuando un grupo químico aquí está "sustituido", este puede tener hasta la valencia total de sustitución; por ejemplo, un grupo metilo puede estar sustituido por 1, 2, o 3 sustituyentes, un grupo metileno puede estar sustituido por 1 o 2 sustituyentes, un grupo fenilo puede estar sustituido por 1, 2, 3, 4, o 5 sustituyentes, y similares.

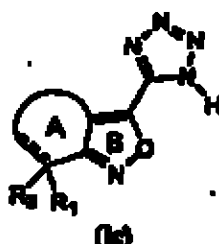
Una realización de la presente invención se relaciona con compuestos de Formula (I) en donde X es NH. Esta realización se puede representar mediante la Formula (Ia) como se ilustra a continuación:



en donde cada variable en la Formula (Ia) tiene el mismo significado descrito aquí, *supra* e *infra*.

Una realización de la presente invención se relaciona con compuesto de Formula (I) en donde X es NH, R₁ es H o hidroxil; R₂ es H o está ausente; --- es un enlace simple cuando R₂ es H, o = es un enlace doble cuando R₂ está ausente; y el Anillo A es un anillo carbocíclico de 5 miembros o un anillo heterocíclico de 5 miembros opcionalmente sustituido con 1 a 4 sustituyentes seleccionados del grupo que consiste de halógeno, alquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₄ y cicloalquilo C₃₋₅; o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo.

Una realización de la presente invención se relaciona con compuestos de Formula (I) en donde X es O. Esta realización se puede representar mediante la Formula (Ic) como se ilustra a continuación:



en donde cada variable en la Formula (Ic) tiene el mismo significado descrito aquí, *supra* e *infra*.

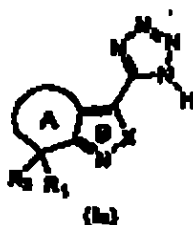
Una realización de la presente invención se relaciona con compuestos de Formula (I) en donde R₁ se selecciona del grupo que consiste de H, halógeno, hidroxí, haloalquilo C₁₋₄, alquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₄, alquenilo C₂₋₄, alquinilo C₂₋₄, alquilC₁₋₄tio, y haloalcoxi C₁₋₄. En algunas realizaciones, R₁ se selecciona del grupo que consiste de H, halógeno, haloalquilo C₁₋₄, y alquilo C₁₋₄. En algunas realizaciones, R₁ es F. En algunas realizaciones, R₁ es H.

Una realización de la presente invención se relaciona con compuestos de Formula (I) en donde R₂ se selecciona del grupo que consiste de H, halógeno, hidroxí, haloalquilo C₁₋₄, alquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₄, alquenilo C₂₋₄, alquinilo C₂₋₄, alquilC₁₋₄tio, y haloalcoxi C₁₋₄. En algunas realizaciones, R₂ se selecciona del grupo que consiste de H, halógeno, haloalquilo C₁₋₄, y alquilo C₁₋₄. En algunas realizaciones R₂ es F. En algunas realizaciones R₂ es H.

Una realización de la presente invención se relaciona con compuestos de Formula (I) en donde R₁ y R₂ son ambos H.

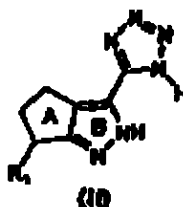
Una realización de la presente invención se relaciona con compuestos de Formula (I) en donde el Anillo A es un anillo carbocíclico de 5 miembros. El término "anillo carbocíclico de 5 miembros" denota un anillo que contiene 5 carbonos de anillo, en donde dos carbonos de anillo están compartidos por los anillos A y B. El anillo A puede estar saturado (i.e., sin enlaces dobles de

anillo), insaturado (i.e., que contiene enlaces dobles de anillo) o una combinación de los mismos. En algunas realizaciones, $\equiv$ es un enlace simple y R_2 está presente. Esta realización se puede sepresentar mediante la Formula (le) como se ilustra a continuación:



en donde cada variable en la Formula (le) tiene los mismos significados descritos aquí, *supra* e *infra*.

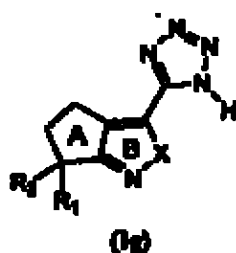
Una realización de la presente invención se relaciona con compuestos que tienen la Formula (lf):



en donde :

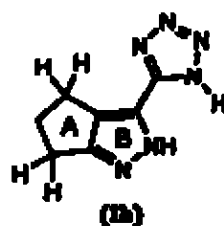
R_1 es H o hidroxí; y el Anillo A está opcionalmente sustituido con 1 o 2 sustituyentes seleccionados del grupo que consiste de halógeno, alquilo C_{1-4} , alcoxi C_{1-4} y cicloalquilo C_{3-5} ; o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo.

En algunas realizaciones, el anillo A es un anillo carbocíclico de 5 miembros. En una realización, el Anillo A es un anillo carbocíclico de 5 miembros y se puede representar mediante la Formula (lg) como se ilustra a continuación:



en donde cada variable en la Formula (Ig) tiene el mismo significado descrito aquí, *supra* e *infra*. En algunas realizaciones, R₁ es alcoxi C₁₋₄. En algunas realizaciones, R₁ es alquilo C₁₋₄. En algunas realizaciones, R₁ y R₂ son ambos H.

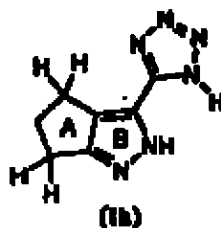
Una realización de la presente invención se relaciona con compuestos que tiene la Formula (Ih):



en donde:

El Anillo A está opcionalmente sustituido con 1 o 2 sustituyentes seleccionados del grupo que consiste de halógeno, alquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₄ y cicloalquilo C₃₋₅; o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo.

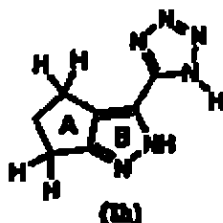
Una realización de la presente invención se relaciona con compuestos que tienen la Formula (Ih):



en donde:

El Anillo A está sustituido con 1 o 2 sustituyentes seleccionados del grupo que consiste de halógeno, n-propilo, n-butilo, alcoxi C₁₋₄ y cicloalquilo C₃₋₅; o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo.

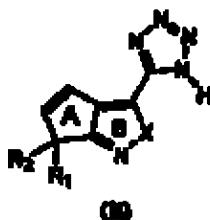
Una realización de la presente invención se relaciona con compuestos que tienen la Formula (Ih):



en donde:

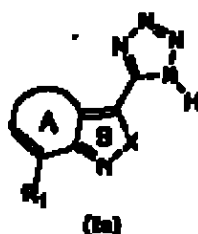
El anillo A no está sustituido o está sustituido con etilo; o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo.

En una realización, el Anillo A es un anillo carbocíclico de 5 miembros y está además insaturado (i.e., un enlace doble de anillo). Esta realización se puede representar mediante la Formula (II) como se ilustra a continuación:

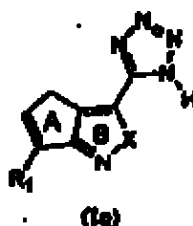


en donde cada variable en la Formula (II) tiene el mismo significado descrito aquí, *supra* e *infra*.

Una realización de la presente invención se relaciona con compuestos de Formula (I) en donde el Anillo A es un anillo carbocíclico de 5 miembros, como se describió aquí *supra*. En algunas realizaciones, $\equiv$ es un enlace doble y R₂ está ausente. Esta realización se puede representar mediante la Formula (Ia) como se ilustra a continuación:

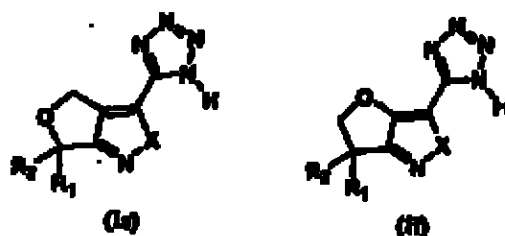


en donde cada variable en la Formula (1a) tiene el mismo significado descrito aquí, *supra* e *infra*. En algunas realizaciones, el Anillo A es un anillo carbocíclico de 5 miembros. Esta realización se puede representar mediante la Formula (1q) como se ilustra a continuación:

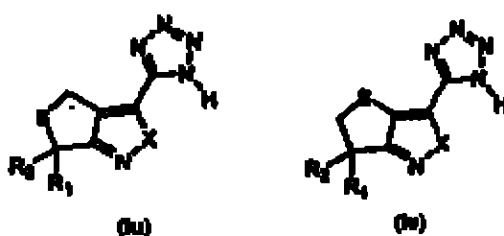


en donde cada variable en la Formula (1q) tiene el mismo significado descrito aquí, *supra* e *infra*.

Una realización de la presente invención se relaciona con compuestos de Formula (1) en donde el Anillo A es un anillo heterocíclico de 5 miembros. El término "anillo heterocíclico de 5 miembros" denota un anillo carbocíclico de 5 miembros, como se describe aquí *supra*, en donde 1, 2 o 3 carbonos de anillo no compartidos por los Anillos A y B están independientemente reemplazados con -O-, -S-, -S(O)-, o -S(O)₂-. Para claridad, como se describió aquí *supra*, el Anillo A puede estar saturado (i.e. sin enlaces dobles de anillo), insaturado (i.e., que contiene enlaces dobles de anillo) o una combinación de los mismos. En algunas realizaciones, $\equiv$ es un enlace simple y R₂ está presente. En algunas realizaciones, el Anillo A es un anillo heterocíclico de 5 miembros. En algunas realizaciones, un carbono de anillo del anillo heterocíclico de 5 miembros es reemplazado con un átomo de oxígeno de anillo; estas realizaciones se pueden representar mediante las siguientes Formulas (1s) e (1t):



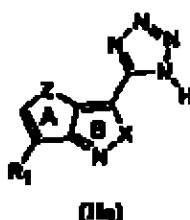
en donde cada variable en las Formulas (Is) e (It) tiene los mismos significados descritos aquí, *supra* e *infra*. En algunas realizaciones, los compuestos de la presente invención son de Formula (Is) en donde X es NH. En algunas realizaciones, los compuestos de la presente invención son de Formula (Is) en donde X es O (un átomo de oxígeno). En algunas realizaciones, los compuestos de la presente invención son de Formula (It) en donde X es NH. En algunas realizaciones, los compuestos de la presente invención son de Formula (It) en donde X es O (un átomo de oxígeno). En algunas realizaciones, los compuestos de la presente invención son de Formula (Is) en donde R₁ es alquilo C₁₋₄ y R₂ es H. En algunas realizaciones, los compuestos de la presente invención son de Formula (Is) en donde ambos R₁ y R₂ son H. En algunas realizaciones, los compuestos de la presente invención son de Formula (It) en donde R₁ es alquilo C₁₋₄ y R₂ es H. En algunas realizaciones, los compuestos de la presente invención son de Formula (It) en donde ambos R₁ y R₂ son H. En algunas realizaciones, un carbono de anillo del anillo heterocíclico de 5 miembros es reemplazado con un átomo de azufre de anillo; estas realizaciones se pueden representar mediante las siguientes Formulas (Iu) y (Iv):



en donde cada variable en las Formulas (Iu) y (Iv) tienen el mismo significado descrito aquí, *supra* e *infra*. En algunas realizaciones, al azufre de anillo en las Formulas (Iu) y (Iv) está adicionalmente oxidado a un sulfóxido (i.e., -S(O)-). En algunas realizaciones, el azufre de anillo en las Formulas (Iu) y (Iv) está oxidado adicionalmente a una sulfona (i.e., -S(O)₂-).

En algunas realizaciones, los compuestos de la presente invención son de Formula (Iu) en donde X es NH. En algunas realizaciones, los compuestos de la presente invención son de Formula (Iu) en donde X es O (un átomo de oxígeno). En algunas realizaciones, los compuestos de la presente invención son de Formula (Iv) en donde X es NH. En algunas realizaciones, compuestos de la presente invención son de Formula (Iv) en donde X es O (un átomo de oxígeno).

Una realización de la presente invención se relaciona con compuestos de Formula (I) en donde el Anillo A es un anillo heterocíclico de 5 miembros. En algunas realizaciones, $\equiv$ es un enlace doble y R_2 está ausente. En algunas realizaciones, el Anillo A es un anillo heterocíclico de 5 miembros. Esta realización se puede representar mediante la Formula (IIa) como se ilustra a continuación:



en donde cada variable en la Formula (IIa) tiene el mismo significado descrito aquí, *supra* e *infra*, y Z es -O-, -S-, -S(O)-, o -S(O)₂-.

Una realización de la presente invención se relaciona con compuestos de Formula (I), y subgéneros revelados aquí, en donde el Anillo A está opcionalmente sustituido con sustituyentes seleccionados del grupo que consiste de halógeno, hidroxilo, haloalquilo C₁₋₄, alquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₄, alquenilo C₂₋₄, alquinilo C₂₋₄, alquiloC₁₋₄tio, y haloalcoxi C₁₋₄. En algunas realizaciones, el Anillo A está opcionalmente sustituido con sustituyentes seleccionados del grupo que consiste de halógeno, haloalquilo C₁₋₄, y alquilo C₁₋₄. En algunas realizaciones, en Anillo A está opcionalmente sustituido con F. En algunas realizaciones, el Anillo A está opcionalmente sustituido con 1 a 4 sustituyentes. En algunas realizaciones, el Anillo A está opcionalmente sustituido con 1 a 3 sustituyentes. En algunas realizaciones, el Anillo A está opcionalmente sustituido con 1 a 2 sustituyentes. En algunas realizaciones,

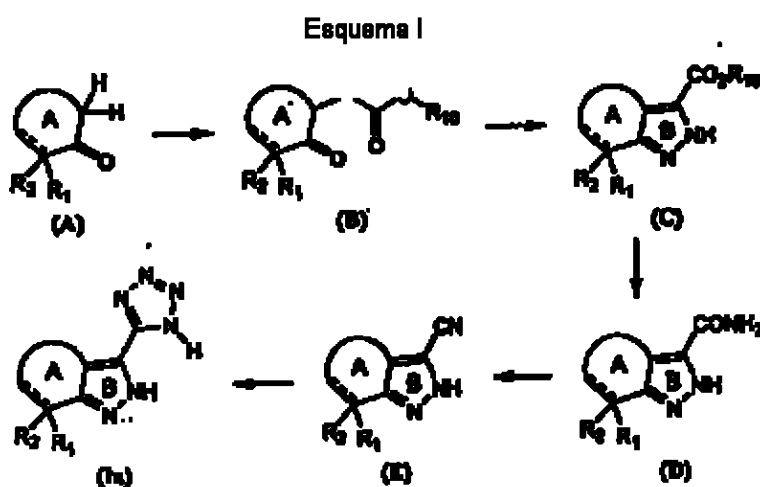
el Anillo A está opcionalmente sustituido con 1 sustituyente. En algunas realizaciones, el Anillo A no está sustituido.

QUÍMICA DE LA PRESENTE INVENCION

Síntesis de los Compuestos de Formula (I)

También se describe aquí un proceso sintético para la preparación de tetrazoles novedosos de Formula (I). Los compuestos de la presente invención se pueden preparar fácilmente de acuerdo con este proceso novedoso que utiliza una variedad de materiales de partida que están disponibles comercialmente o se preparan fácilmente mediante regímenes sintéticos que serían familiares al experto en la técnica. En las síntesis ilustradas indicadas más adelante, a menos que se declare de otra forma, los sustituyentes marcados tienen las mismas identificaciones que las indicadas en las definiciones del compuesto descrito anteriormente para la Formula (I).

Un método que se puede usar para preparar los compuestos de la invención en donde X es NH (i.e., el Anillo B es un pirazol) utiliza intermediarios derivados de la cetona cíclica de Formula (A) como se ilustra en el siguiente Esquema de Reacción:

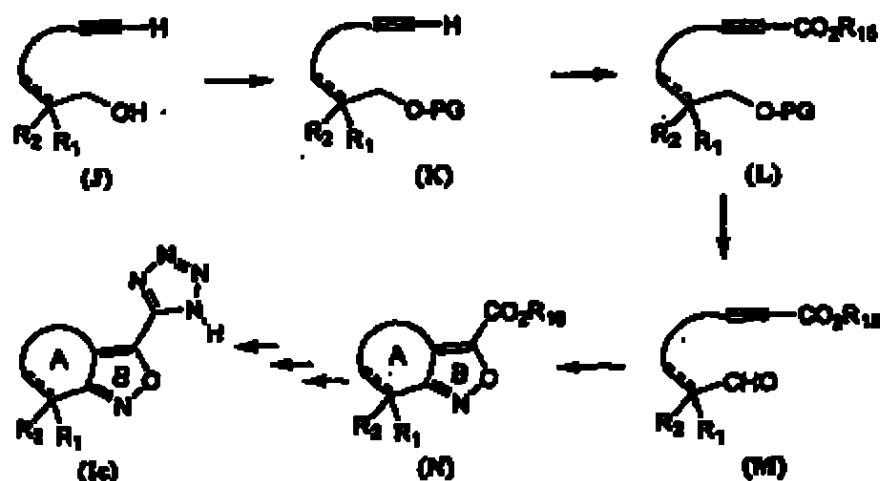


Los compuestos de Formula (Ia) se pueden preparar mediante la reacción de una cetona cíclica de Formula (A) con dialquilofoxalato de formula

$(C(O)OR_{10})_2$, en donde R_{10} es un alquilo C_{1-8} , en la presencia de una base y un solvente polar tal como, pero sin limitarse a, alcohol C_{1-8} , metanol, etanol, butanol, pentanol, hexanol, 2-metoxietanol, isopropanol, THF, DMF y similares para dar un cetoéster de Formula (B). Las bases adecuadas incluyen alcóxidos de metal de álcali, por ejemplo, metóxido de sodio, etóxido de sodio, etóxido de potasio, t-butóxido de potasio, y similares; amidas de metal de álcali (i.e., metal de álcali- NR_{11} en donde R_{11} es alquilo C_{1-8} o silil-alquilo C_{1-8}), por ejemplo, diisopropilamida de litio, hexametildisilazano de litio, hexametildisilazano de sodio, hexametildisilazano de potasio y bases similares. El cetoéster (B) reacciona con hidrazina, ya sea hidrazina protegida o desprotegida, bajo condiciones adecuadas para dar el pirazol éster de Formula (C). Opcionalmente, el pirazol puede estar protegido, por ejemplo, con un grupo bencilo y similares. El éster es convertido a amida de Formula (D) usando métodos conocidos para el experto en la técnica, por ejemplo, tratamiento con aminíaco en un solvente polar a temperatura desde temperatura ambiente al punto de ebullición del solvente. La amida (D) reacciona con un reactivo deshidratante, tal como oxidloruro de fósforo, pentóxido de fósforo, cloruro de tionilo, y similares, ya sea puro o en presencia de un solvente no prótico, tal como acetonitrilo, DMF, y similares, para dar el nitrilo (E). El nitrilo (E) reacciona con una azida (i.e., N_3) o equivalente de azida, tal como, azida de sodio, azida de potasio, azida de trimetilsililo (i.e., $(CH_3)_3SiN_3$), y similares para dar el tetrazol de Formula (Ia). En algunas instancias puede ser benéfico incluir la presencia de un ácido de Lewis, por ejemplo, $AlCl_3$, $ZnBr_2$, y similares, en un solvente adecuado, tal como, DMF y similares.

Un método que se puede usar para preparar los compuestos de Formula (I) en donde X es un oxígeno de anillo (i.e., el Anillo B es un isoxazol) utiliza intermediarios derivados del alquínol alcohol de Formula (J) como se ilustra en el siguiente Esquema de Reacción II:

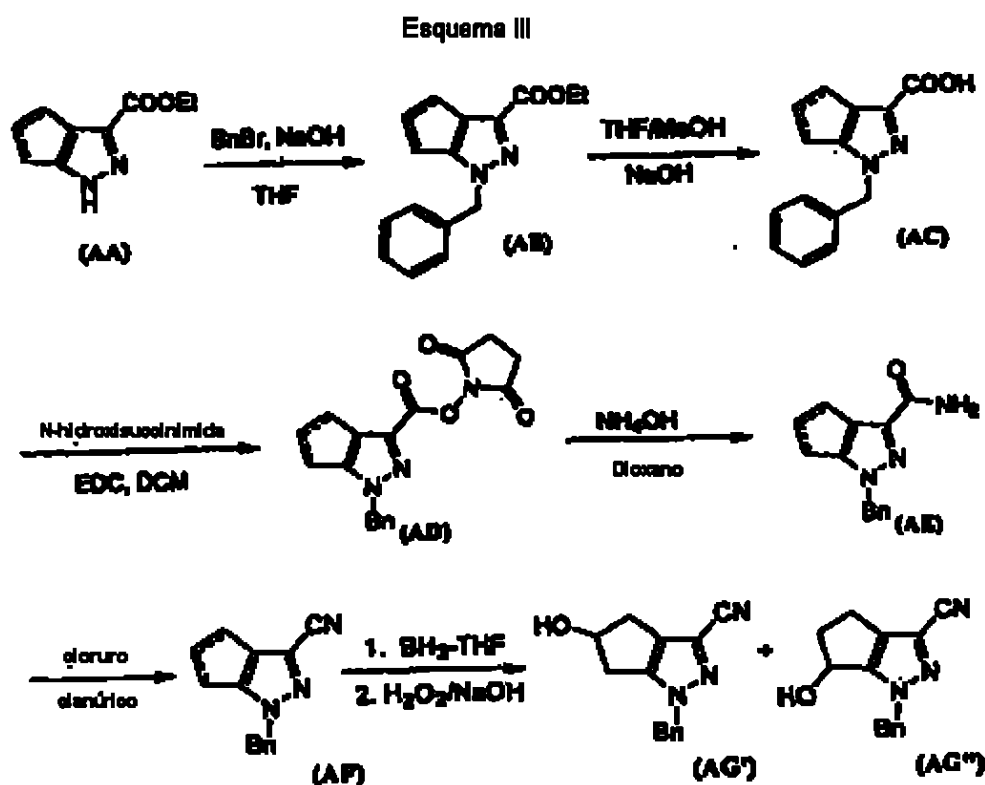
Esquema II



Los compuestos de Fórmula (Ic) se pueden preparar mediante la protección de un alquínil alcohol de Fórmula (J) con un grupo protector adecuado, por ejemplo, THP, TBDMS, y similares para dar el alquínilo (K). El alquínilo (K) es convertido a un éster de alquínilo de Fórmula (L, en donde R_{15} es alquilo C_{1-8}) mediante el tratamiento con una base fuerte seguida por la reacción con un cloroformato de alquilo C_{1-8} . Una base fuerte adecuada es un alquil litio, por ejemplo, pero sin limitarse a, *n*-butil litio, *t*-butil litio y similares. El intermediario (L) es posteriormente desprotegido usando métodos conocidos por los expertos en la técnica, por ejemplo, el grupo THP puede típicamente ser removido por el tratamiento con un ácido (e.g. PTSA) y el grupo TBDMS puede típicamente ser removido por el tratamiento con un fluoruro de tetraalquilamonio. El alcohol resultante es oxidado a aldehído (M) usando cualquier variedad de métodos, por ejemplo, peryodinano Dess-Martin (i.e., 1,1,1-triacetoxi-1,1-dihidro-1,2-benziodoxol-3(1*H*)-ona), Oxidación de Swern, oxidación de Corey con NCS o cualquier otro método adecuado descrito por Hudlicky, M. en *Oxidations in Organic Chemistry*, ACS Monograph 186 (1990). El aldehído (M) es tratado con hidroxilamina en presencia de una base, seguida por NCS y Base para dar alquiléster de isoxazol (N). El isoxazol (N) puede ser convertido a los compuestos de Fórmula (Ic) de una forma sustancialmente similar a la descrita anteriormente en el Esquema de Reacción I, (i.e., $-\text{CO}_2\text{-alquiloC}_{1-8} \rightarrow -\text{CONH}_2 \rightarrow -\text{C}=\text{N} \rightarrow \text{tetrazol}$).

Un método que se puede usar para preparar ciertos compuestos de Fórmula

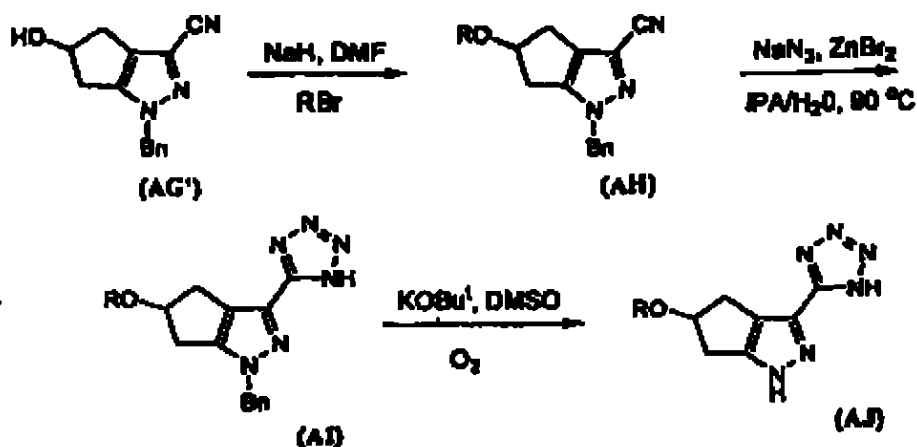
(I) utiliza el intermediario (AJ) como se ilustra en los Esquemas de Reacción III y IV siguientes:



Los compuestos de la estructura (AJ) (en donde R es alquilo C_{1-4} , alquenilo C_{2-4} , y alquinilo C_{2-4}) se pueden preparar mediante el tratamiento del pirazol insaturado (AA) con bromuro de bencilo en un solvente adecuado como THF en presencia de NaOH como la base, para dar el N-bencil pirazol (AB). El pirazol (AB) puede ser saponificado usando métodos conocidos por el experto en la técnica, por ejemplo, tratamiento con hidróxido de sodio acuoso en una mezcla de solvente tal como THF/MeOH. El ácido (AC) es acoplado con la N-hidroxi succinimida usando un reactivo de acoplamiento tal como EDC. El éster (AD) es convertido a la amida (AE) mediante el tratamiento con solución de NH_4OH en un solvente tal como 1,4-dioxano. La amida (AE) puede reaccionar con un reactivo de deshidratación tal como cloruro cianúrico, anhídrido trifluoro acético, cloruro de tionilo y similares, en presencia de un solvente no prótico tal como DMF para dar el nitrilo (AF). El nitrilo (AF) es tratado con un exceso de solución de borano-THF en un solvente como THF a baja temperatura, seguida por oxidación con peróxido de hidrógeno en presencia de hidróxido de sodio para dar una mezcla 1:1 de los alcoholes mostrados como (AG') y (AG'').

Utilizando el alcohol (AG') o el alcohol (AG'') se puede preparar una variedad de éteres. Una síntesis representativa se muestra en el Esquema de Reacción IV usando el alcohol (AG'). Se entiende que se puede utilizar un esquema sintético similar partiendo del alcohol (AG'').

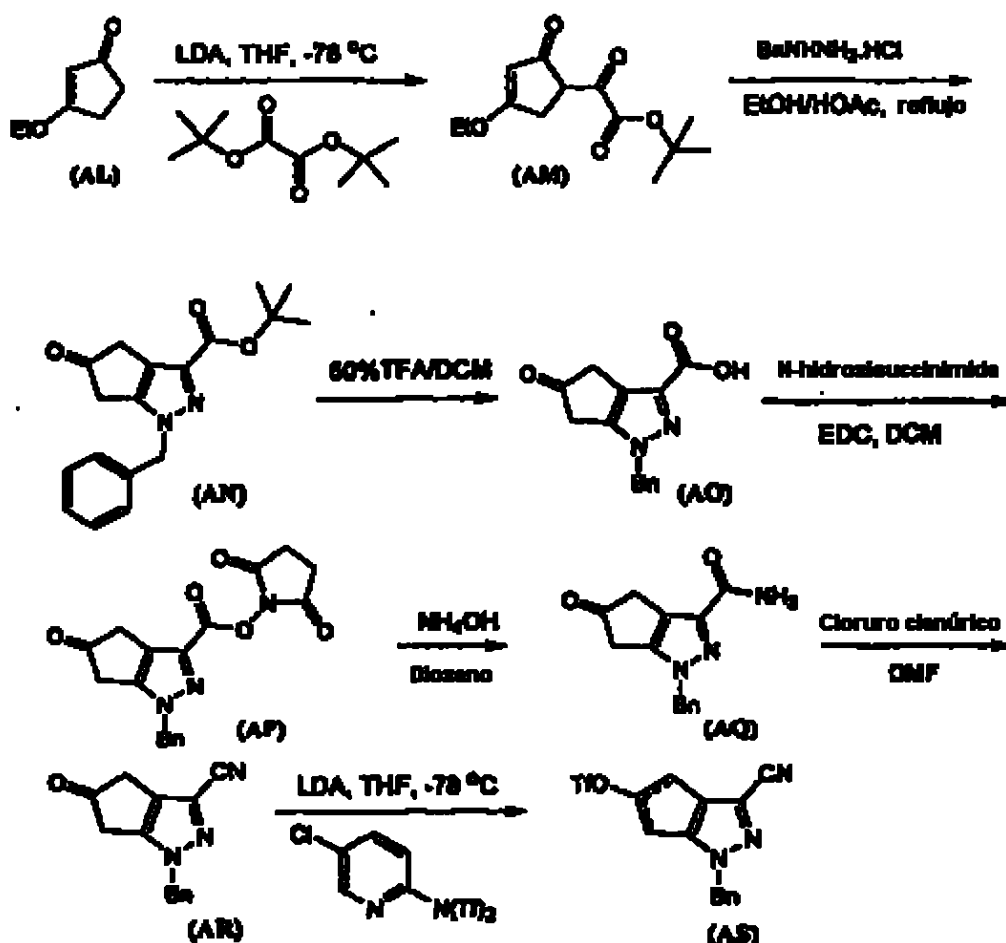
Esquema IV



Los compuestos de la estructura (AH) se pueden preparar mediante el tratamiento del intermediario de alcohol (AG') con un exceso de haluro de alquilo en la presencia de una base tal como hidruro de sodio en un solvente aprótico como DMF. El nitrilo (AH) reacciona con una azida tal como azida de sodio, en la presencia de un ácido de Lewis tal como bromuro de zinc, para dar el tetrazol de la estructura (AI). Los compuestos finales se pueden preparar mediante la remoción del grupo protector de bencilo bajo condiciones oxidantes en un solvente como DMSO usando una base tal como *t*-butóxido de potasio y gas oxígeno.

Un método que se puede usar para preparar ciertos compuestos de Fórmula (I) utiliza el intermediario (AS) como se ilustra en el Esquema de Reacción V siguiente:

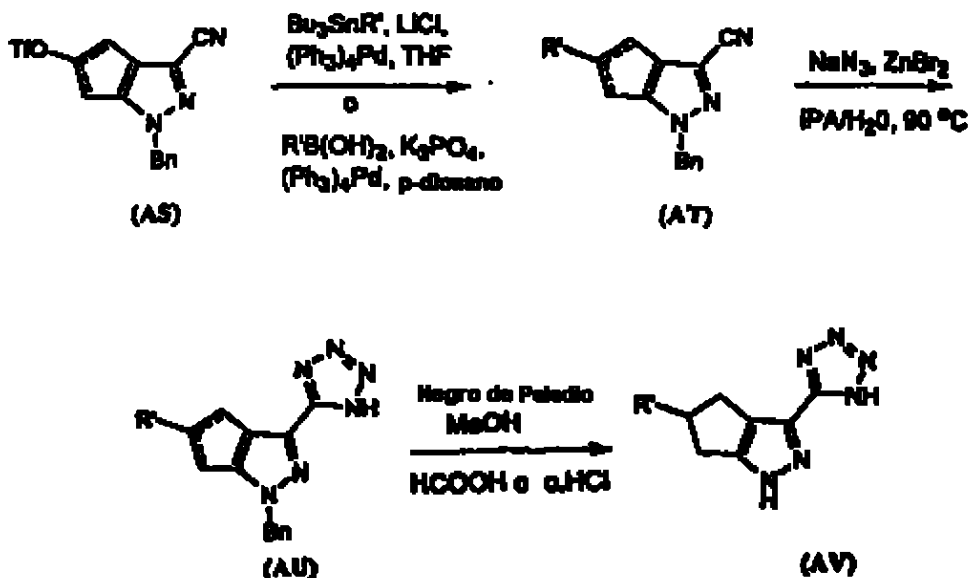
Esquema V



Los compuestos de la estructura (AV) se pueden preparar a partir de 3-etoxi-ciclopentenona mediante el tratamiento con dialquiloalato tal como di-ter-butil oxalato o dietiloxalato en presencia de una base no nucleofílica tal como LDA o LHMDs en un solvente como THF para dar el cetoéster (AM). El ceto-éster (AM) reacciona con bencil hidrazina bajo reflujo en un solvente polar, tal como etanol o metanol que contiene ácido acético glacial para dar el pirazol (AN). Alternativamente, el ceto-éster (AM) puede reaccionar con hidrazina, seguida por la alquilación del pirazol con bromuro de bencilo usando carbonato de cesio como la base en un solvente no prótico tal como DMF. El pirazol éster (AN) puede ser convertido al nitrilo (AR) usando una secuencia similar a los pasos descritos para (AG'). La cetona (AR) es convertida al triflato de vinilo (AS) usando el reactivo de Commins en presencia de LDA en un solvente como THF.

Utilizando el compuesto (AS), se puede introducir una variedad de sustituyentes (en donde R' es alquiloC₁₋₄, alqueniloC₂₋₄, y alquiniloC₂₋₄) en el C5 como se muestra en el Esquema de Reacción VI.

Esquema VI



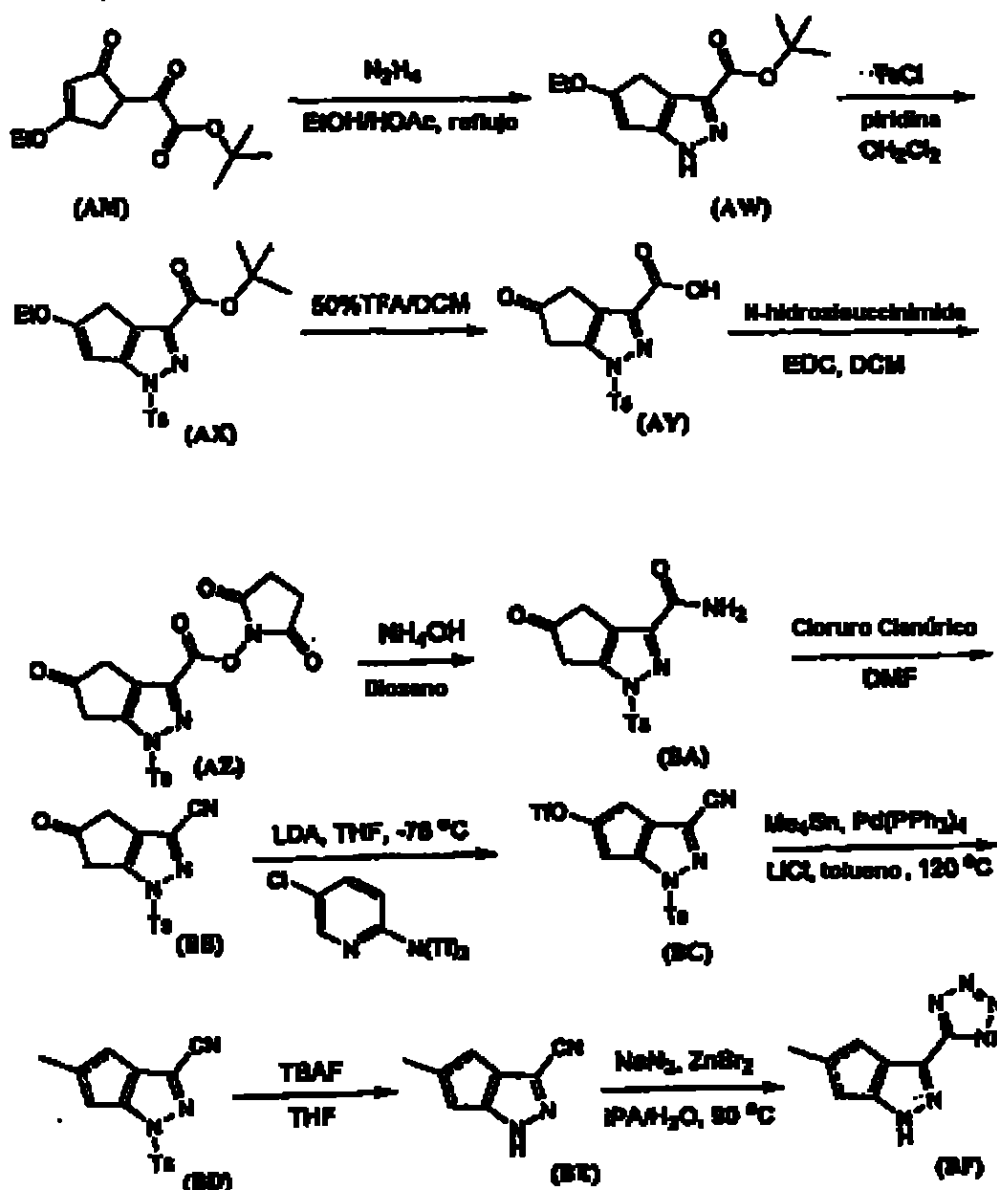
El triflato (AS) puede reaccionar con un reactivo de estano adecuado en presencia de una base tal como cloruro de litio y un catalizador como tetrakis trifenil fosfina paladio (0) en un solvente adecuado tal como THF o tolueno. Alternativamente, el triflato (AS) puede reaccionar con un ácido alquenil borónico adecuado en presencia de una base tal como fosfato de potasio y un catalizador tal como tetrakis trifenol fosfina paladio (0) en un solvente adecuado tal como 1,4-dioxano. El nitrilo (AT) reacciona con una azida tal como azida de sodio, en presencia de un ácido de Lewis tal como bromuro de zinc, para dar el tetrazol de la estructura (AU). Los compuestos finales se preparan mediante la remoción del grupo protector de bencilo que se puede realizar bajo condiciones reductoras usando negro de paladio en un solvente polar tal como metanol o etanol y ácido tal como ácido fórmico o ácido clorhídrico concentrado.

Alternativamente, el alcohol (AG') puede ser fluorado usando métodos conocidos por los expertos en la técnica, tal como DAST [trifluoruro de (dietilamino)azufre], para dar un compuesto de fluoro que puede ser

elaborado a su derivado de tetrazol y desprotegido usando los métodos descritos aquí.

Un método que se puede usar para preparar ciertos compuestos de Formula (I) se ilustra en el Esquema de Reacción VII siguiente:

Esquema VII



Un compuesto de la estructura (BF) se puede preparar a partir del ceto éster (AM) mediante la reacción con hidrato de hidrazina en un solvente polar tal como etanol que contiene ácido acético glacial para dar el pirazol (AW). El pirazol (AW) puede reaccionar con un cloruro de sufonilo tal como cloruro de p-toluen sulfonilo en un solvente tal como CH_2Cl_2 en presencia de una base tal como piridina para dar el derivado N-sulfonilado (AX). El pirazol éster

(AX) puede ser desprotegido bajo condiciones ácidas usando un ácido tal como TFA en CH_2Cl_2 para formar (AY). El pirazol ácido (AY) puede ser convertido al nitrilo (BB) usando una secuencia similar a los pasos descritos para (AG'). La cetona (BB) se puede convertir al triflato de vinilo (BC) usando reactivo de Commins en presencia de una base tal como LDA en un solvente tal como THF.

El triflato (BC) puede estar acoplado con tetrametilestaño en presencia de una base tal como cloruro de litio y un catalizador tal como tetrakis trifenil fosfina paladio (0) en un solvente adecuado como THF o tolueno. El grupo p-toluen sulfonilo puede ser removido mediante la reacción con solución de fluoruro de tetra butil amonio en un solvente tal como THF para dar el pirazol (BE). El compuesto final se prepara mediante la reacción del nitrilo (BE) con una azida tal como azida de sodio, en presencia de un ácido de Lewis tal como bromuro de zinc, para dar el tetrazol (BF).

Las diferentes transformaciones de grupo orgánico y grupos protectores utilizados aquí se pueden realizar mediante un número de procedimientos diferentes a los descritos anteriormente. Las referencias para otros procedimientos sintéticos que se pueden utilizar para la preparación de intermediarios o compuestos revelados aquí, se pueden encontrar en, por ejemplo, Smith, M. B.; y March, J., *Advanced Organic Chemistry*, 5 Edition, Wiley-Interscience (2001); Larock, R.C., *Comprehensive Organic Transformations*, A Guide to Functional Group Preparations, 2a Edition, VCH Publishers, Inc. (1999), o Wuts, P.G. M.; Greene, T. W.; *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3d Edition, John Wiley and Sons, (1999), los tres incorporados aquí para referencia en su totalidad.

Los compuestos de Formula (I) pueden tener uno o más centros quirales, y por lo tanto existir como enantiómeros o diastereómeros. Se entiende que la invención se extiende a todos esos enantiómeros, diastereómeros y mezclas de los mismos, incluyendo racematos. La Formula (I) y las formulas descritas aquí, *supra*, pretenden representar todos los isómeros individuales y mezclas de los mismos, a menos de se declare o muestre de otra forma.

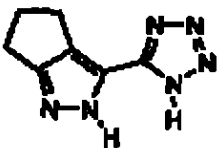
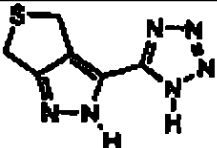
Las mezclas racémicas pueden ser resueltas en los enantiómeros ópticos puros mediante métodos conocidos, por ejemplo, mediante separación de

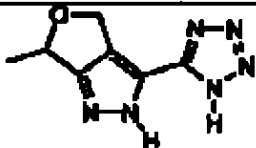
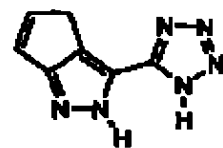
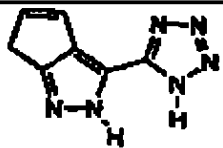
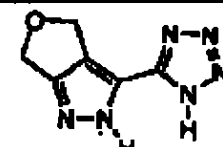
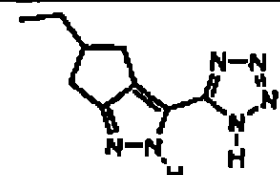
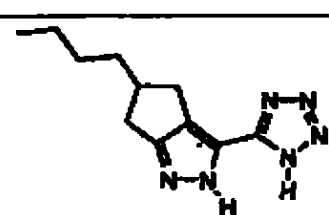
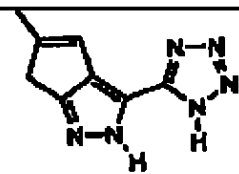
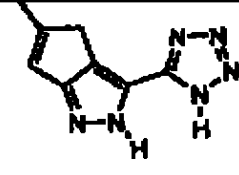
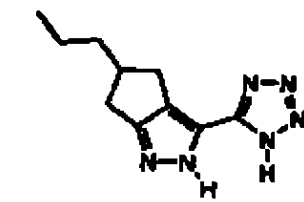
las sales diastereoméricas de los mismos, con un ácido ópticamente activo, y liberando el compuesto de amina ópticamente activo mediante el tratamiento con una base. Otro método para resolver racematos en los enantiómeros ópticos puros se basa en cromatografía de una matriz ópticamente activa o soporte quiral . Ciertos compuestos recémicos de la presente invención pueden así ser resueltos en sus antípodas ópticas, e.g., mediante cristalización fraccionada de sales de d- o l-(tartratos, mandelatos, o camforsulfonato), por ejemplo. Los compuestos de la presente invención también pueden ser resueltos mediante la formación de amidas diastereoméricas o éster mediante la reacción de los compuestos de la presente invención con un ácido carboxílico ópticamente activo tal como el derivado de (+) o (-) fenilalanina, (+) o (-) fenilglicina, ácido (+) o (-) camfánico o mediante la formación de carbamatos diastereoméricos por la reacción de los compuestos de la presente invención con un cloroformato ópticamente activo o similares posteriormente hidrolizados.

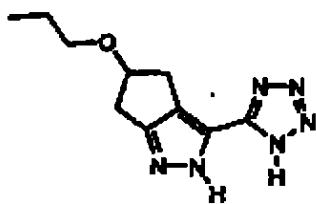
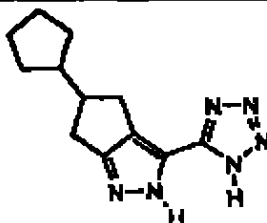
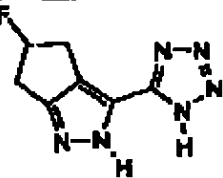
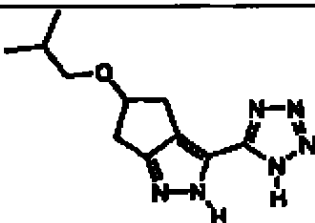
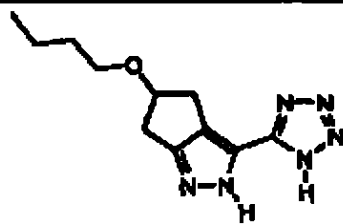
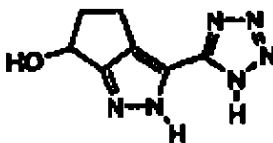
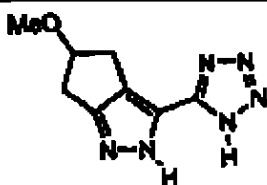
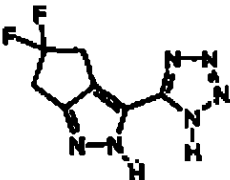
Se pueden usar métodos adicionales para la resolución de isómeros ópticos conocidos por los expertos en la técnica y serán obvios para el trabajador de conocimiento promedio en la técnica. Tales métodos incluyen aquellos discutidos por J. Jaques, A. Collet, y S. Wilen en "Enantiomers, Racemates, and Resolutions", John Wiley and Sons, New York (1981).

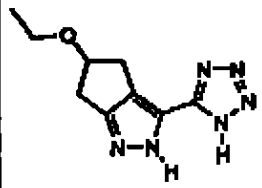
Ejemplos representativos del compuesto de Formula (I) se muestran en la TABLA A siguiente.

TABLA A

Comp. #	Estructura	Nombre Químico
1		3-(1H-Tetrazol-5-il)-2,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapyrazol
2		3-(1H-Tetrazol-5-il)-2,6-dihidro-4H-tien[3,4-c]pyrazol

3		6-metil-3-(1H-tetrazol-5-il)-2,6-dihidro-4H-furo[3,4-c]pirazol
4		3-(1H-tetrazol-5-il)-2,4-dihidrociclopentapirazol
5		3-(1H-tetrazol-5-il)-2,6-dihidrociclopentapirazol
6		3-(1H-tetrazol-5-il)-2,6-dihidro-4H-furo[3,4-c]pirazol
7		5-etil-3-(1H-tetrazol-5-il)-2,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol
8		5-butil-3-(1H-tetrazol-5-il)-2,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol
9		5-metil-3-(1H-tetrazol-5-il)-2,6-dihidro-ciclopentapirazol
10		5-metil-3-(1H-tetrazol-5-il)-2,4-dihidro-ciclopentapirazol
11		5-propil-3-(1H-tetrazol-5-il)-2,4,5,6-tetrahidrociclopentapirazol

12		5-propoxy-3-(1H-tetrazol-5-yl)- 2,4,5,6- tetrahydrocyclopentapirazole
13		5-cyclopentyl-3-(1H-tetrazol-5-yl)- 2,4,5,6- tetrahydrocyclopentapirazole
14		5-fluoro-3-(1H-tetrazol-5-yl)- 2,4,5,6-tetrahydro cyclopentapirazole
15		5-isobutoxy-3-(1H-tetrazol-5-yl)-2, 4,5,6-tetrahydrocyclopentapirazole
16		5-butoxy-3-(1H-tetrazol-5-yl)- 2,4,5,6- tetrahydrocyclopentapirazole
17		3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,4,5,6- tetrahydro-cyclopentapirazole-6-ol
18		5-methoxy-3-(1H-tetrazol-5-yl)- 2,4,5,6- tetrahydrocyclopentapirazole
19		5,5-difluoro-3-(1H-tetrazol-5-yl)- 2,4,5,6- tetrahydrocyclopentapirazole

20		5-ethoxy-3-(1H-tetrazol-5-yl)- 2,4,5,6- tetrahydrocyclopentapyrazol
----	---	---

Métodos y Usos

Los compuestos de la presente invención son útiles en la inhibición de la producción de ácidos grasos libres. Además, los compuestos de la presente invención son útiles en la inhibición de la producción de ácidos grasos libres mientras produce una disminución sustancial o en algunas instancias no medibles, efectos secundarios de enrojecimiento, cuyos efectos están asociados comúnmente con la administración de niacina. Los compuestos de la presente invención típicamente no producen vasodilatación en dosis tan altas como de aproximadamente 300mpk medida usando métodos conocidos en la técnica, tales como el método mostrado en el Ejemplo 7.

En algunas realizaciones, los compuestos de la presente invención producen esencialmente enrojecimiento no medible en un individuo, comparado con una dosis esencialmente igualmente efectiva de niacina. En otras realizaciones, los compuestos de la presente invención producen menos de aproximadamente 80%, 75%, 70%, 65%, 60%, 55%, 50%, 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15%,10%, 5%, o 1 % de enrojecimiento medible en un individuo comparado con una dosis esencialmente igualmente efectiva de niacina.

Los compuestos de la presente invención pueden modular la actividad del receptor RUP25. El término "modular" significa la habilidad de aumentar o disminuir la actividad del receptor. En algunas realizaciones, los compuestos de la invención se pueden usar en los métodos para modular un receptor RUP25 por el contacto del receptor con uno cualquiera o más de los compuesto descritos aquí. En aún otras realizaciones, los compuestos de la invención se pueden usar en los métodos para modular un receptor RU P25 para el tratamiento de un trastorno metabólico relacionado en un individuo en necesidad de tal modulación, que comprende contactar el receptor con

una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de Formula (I). En algunas realizaciones, los compuestos de la invención aumentar la actividad del receptor RUP25. En realizaciones adicionales, los compuestos de la invención son agonistas del receptor RUP25. El término "agonista", como se usa aquí, se refiere a agentes que pueden estimular la actividad del receptor (i.e., activar), como el receptor RUP25. En algunas realizaciones, los compuestos de la invención son agonistas parciales del receptor RUP25.

También se describen aquí los métodos para el tratamiento de un trastorno metabólico relacionado que comprende administrar a un individuo en necesidad de dicho tratamiento, una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de Formula (I).

También se describen aquí los métodos para elevar el HDL en un individuo que comprende administrar a dicho individuo una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de Formula (I).

Otro aspecto de la presente invención se relaciona con compuestos de Formula (I), descritos aquí, para uso en un método para el tratamiento del cuerpo humano o animal mediante terapia.

Otro aspecto de la presente invención se relaciona con compuestos de Formula (I), descritos aquí, para uso en un método para el tratamiento de un trastorno metabólico relacionado del cuerpo humano o animal mediante terapia.

Otro aspecto de la presente invención se relaciona con compuestos de Formula (I), descritos aquí, para uso en un método para el tratamiento de un trastorno metabólico relacionado del cuerpo humano o animal mediante terapia, en donde dicho trastorno metabólico relacionado se selecciona del grupo que consiste de dislipidemia, aterosclerosis, enfermedad cardíaca coronaria, resistencia a la insulina, obesidad, tolerancia a la glucosa deteriorada, enfermedad ateromatosa, hipertensión, accidente cerebrovascular, Síndrome X, enfermedad cardíaca y diabetes tipo 2.

Otro aspecto de la presente invención se relaciona con compuestos de Formula (I), descritos aquí, para uso en un método para el tratamiento de

trastorno metabólico relacionado del cuerpo humano o animal mediante terapia, en donde dicho trastorno metabólico relacionado se selecciona del grupo que consiste de dislipidemia, aterosclerosis, enfermedad cardíaca coronaria, resistencia a la insulina y diabetes tipo 2.

Otro aspecto de la presente invención se relaciona con compuestos de Formula (I), descritos aquí, para uso en un método para el tratamiento de aterosclerosis del cuerpo humano o animal mediante terapia.

Otro aspecto de la presente invención se relaciona con compuestos de Formula (I), descritos aquí, para uso en un método para elevar HDL del cuerpo humano o animal mediante terapia.

Otro aspecto de la presente invención se relaciona con usos de los compuestos de Formula (I), descritos aquí, para la fabricación de un medicamento para uso en el tratamiento de un trastorno metabólico relacionado.

Otro aspecto de la presente invención se relaciona con usos de los compuestos de Formula (I), descritos aquí, para la fabricación de un medicamento para uso en el tratamiento de un trastorno metabólico relacionado seleccionado del grupo que consiste de dislipidemia, aterosclerosis, enfermedad cardíaca coronaria, resistencia a la insulina, obesidad, tolerancia a la glucosa deteriorada, enfermedad ateromatosa, hipertensión, accidente cerebrovascular, Síndrome X, enfermedad cardíaca y diabetes tipo 2.

Otro aspecto de la presente invención se relaciona con usos de los compuestos de Formula (I), descritos aquí, para la fabricación de un medicamento para uso en el tratamiento de aterosclerosis.

Otro aspecto de la presente invención se relaciona con usos de los compuestos de Formula (I), descritos aquí, para la fabricación de un medicamento para uso en la elevación del HDL en un individuo.

Algunas realizaciones de la presente invención se relacionan con métodos para el tratamiento de trastornos metabólicos relacionados. En algunas

realizaciones el trastorno metabólico relacionado es del grupo que consiste de dislipidemia, aterosclerosis, enfermedad cardíaca coronaria, resistencia a la insulina, obesidad, tolerancia a la glucosa deteriorada, enfermedad ateromatosa, hipertensión, accidente cerebrovascular, Síndrome X, enfermedad cardíaca y diabetes tipo 2. En algunas realizaciones el trastorno metabólico relacionado es dislipidemia, aterosclerosis, enfermedad cardíaca coronaria, resistencia a la insulina y diabetes tipo 2. En algunas realizaciones, el trastorno metabólico relacionado es dislipidemia. En algunas realizaciones el trastorno metabólico relacionado es aterosclerosis. En algunas realizaciones el trastorno metabólico relacionado es enfermedad cardíaca coronaria. En algunas realizaciones el trastorno metabólico relacionado es resistencia a la insulina. En algunas realizaciones el trastorno metabólico relacionado es diabetes tipo 2.

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

Otro aspecto de la presente invención se relaciona con métodos para producir una composición farmacéutica que comprende mezclar o combinar un compuesto de Formula (I), descrito aquí, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Composiciones de la presente invención

Algunas realizaciones de la presente invención incluyen composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de acuerdo con la Formula (I) en combinación con un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Algunas realizaciones de la presente invención incluyen un método para producir una composición farmacéutica que comprende mezclar al menos un compuesto de acuerdo con cualquiera de las realizaciones de compuesto reveladas aquí y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Las formulaciones se pueden preparar por cualquier método adecuado, típicamente mezclando uniformemente el(los) compuesto(s) activo(s) con líquidos o vehículos sólidos finamente divididos, o ambos, en las

proporciones requeridas, y luego, si es necesario, formar la mezcla resultante en una forma deseada.

Se pueden usar excipientes convencionales, tales como agents aglutinantes, rellenos, agents humectants adecuados, lubricantes de tableteado, y desintegrantes en las tabletas y cápsulas para administración oral. Las preparaciones líquidas para administración oral pueden estar en la forma de soluciones, emulsiones, suspensiones acuosas u oleosas, y jarabes. Alternativamente, las preparaciones orales pueden estar en la forma de polvo seco que puede ser reconstituido con agua u otro vehículo líquido antes de uso. Se pueden agregar aditivos adicionales a las preparaciones líquidas tales como agents de suspensión o emulsificantes, vehículos no acuosos (incluyendo aceites comestibles), preservativos, y saborizantes y colorantes. Las formas de dosis parenterales se pueden preparar disolviendo el compuesto de la invención en un vehículo líquido adecuado y filtrar esterilizando la solución antes de llenar y sellar el vial o ampolla apropiado. Estos son solo unos pocos ejemplos de los muchos métodos apropiados bien conocidos en la técnica para preparar formas de dosis.

Un compuesto de la presente invención puede ser formulado en composiciones farmacéuticas usando técnicas bien conocidas para los de la técnica. Vehículos farmacéuticamente aceptables adecuados, además de los mencionados aquí, con conocidos en la técnica; por ejemplo, ver Remington, The Science and Practice of Pharmacy, 20th Edition, 2000, Lippincott Williams & Wilkins, (Editors: Gennaro, A.R., et al.).

Aunque es posible que un compuesto para uso en el tratamiento puede, en un uso alternativo, ser administrado como un químico crudo o puro, es preferible, sin embargo, presentar el compuesto o "ingrediente activo" como una formulación farmacéutica o composición que comprende además un vehículo farmacéuticamente aceptable. Por lo tanto, un aspecto de la presente invención abarca composiciones farmacéuticas que comprenden un vehículo farmacéuticamente aceptable en combinación con al menos un compuesto de acuerdo con la Formula (I).

La invención provee formulaciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de la invención o una sal farmacéuticamente aceptable, hidrato o

solvato del mismo, junto con uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables del mismo. El(los) vehículos deben ser "aceptables" en el sentido de ser compatibles con los otros ingredientes de la formulación y no perjudiquen demasiado el recipiente del mismo.

Las formulaciones farmacéuticas incluyen aquellas adecuadas para administración oral, rectal, nasal, tópica (incluyendo bucal y sub-lingual), vaginal o parenteral (incluyendo intramuscular, sub-cutánea e intravenosa) o en una forma adecuada para administración mediante inhalación, insuflación o mediante un parche transdérmico. Los parches transdérmicos dispensan un fármaco a una velocidad controlada presentando el fármaco para absorción de una manera eficiente con un mínimo de degradación del fármaco. Típicamente, los parches transdérmicos comprenden una capa de respaldo impermeable, un adhesivo sensible de presión simple y una capa protectora removible con un revestimiento de liberación. El de conocimiento ordinario en la técnica entenderá y apreciará las técnicas apropiadas para fabricar un parche eficaz deseado usando según las necesidades del artesano.

Los compuestos de la invención, junto con un adyuvante, vehículo, o diluyente convencional, puede así ser colocado en la forma de formulaciones farmacéuticas y las dosis de unidad del mismo, y en tal forma se pueden emplear como sólidos, tales como tabletas o cápsulas rellenas, o líquidos tales como soluciones, suspensiones, emulsiones, elixires, geles o cápsulas rellenas con el mismo, todas para uso oral, en la forma de supositorios para administración rectal; o en la forma de soluciones inyectables estériles para uso parenteral (incluyendo subcutánea). Tales composiciones farmacéuticas y formas de dosis de unidad de las mismas pueden comprender ingredientes convencionales en proporciones convencionales, con o sin compuestos o principios activos adicionales, y tales formas de dosis de unidad pueden contener cualquier cantidad efectiva adecuada del ingrediente activo de acuerdo con el rango de dosis diaria destinada a ser empleado.

Para administración oral, la composición farmacéutica puede estar en la forma de, por ejemplo, una tableta, cápsula, suspensión o líquido. La composición farmacéutica está hecha preferiblemente en la forma de una unidad de dosis que contiene una cantidad particular del ingrediente activo.

Ejemplos de tales unidades de dosis son cápsulas, tabletas, polvos, gránulos o una suspensión, con aditivos convencionales tales como lactosa, manitol, almidón de maíz o almidón de papa; con aglutinantes tales como celulosa cristalina, derivados de celulosa, acacia, almidón de maíz o gelatinas; con desintegrantes tales como almidón de maíz, almidón de papa o carboximetilcelulosa de sodio; y con lubricantes tales como talco o estearato de magnesio. El ingrediente activo también puede ser administrado por inyección como una composición en donde, por ejemplo, se puede usar solución salina, dextrosa o agua como un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Los compuestos de la presente invención o un solvato o derivado fisiológicamente funcional del mismo, se pueden usar como ingredientes activos en composiciones farmacéuticas, específicamente como agonistas del receptor RUP25. Por el término "ingrediente activo" se define en el contexto de una "composición farmacéutica" y significa un componente de una composición farmacéutica que provee el efecto farmacológico primario, opuesto a un "ingrediente inactivo" que generalmente sería reconocido por no proveer beneficio farmacéutico.

La dosis cuando se usan los compuestos de la presente invención puede variar dentro de amplios límites, y como es usual y conocido por el médico, será diseñada a las condiciones individuales en cada caso individual. Depende, por ejemplo, de la naturaleza y severidad de la enfermedad a ser tratada, de la condición del paciente, del compuesto empleado o si se trata de un estado de enfermedad agudo o crónico conducido, o de si se administran compuestos activos adicionales además de los compuestos de la presente invención. Las dosis representativas de la presente invención incluyen, pero no se limitan a, aproximadamente 0.001 mg a aproximadamente 5000 mg, aproximadamente 0.001 a aproximadamente 2500 mg, aproximadamente 0.001 a aproximadamente 1000 mg, 0.001 a aproximadamente 500 mg, 0.001 mg a aproximadamente 250 mg, aproximadamente 0.001 mg a 100 mg, aproximadamente 0.001 mg a aproximadamente 50mg, y aproximadamente 0.001 mg a aproximadamente 25 mg. Se pueden administrar dosis múltiples durante el día, especialmente cuando se consideran encasarias cantidades grandes, por ejemplo 2, 3 o 4, dosis. Dependiendo del individuo y si es considerado apropiado por el

medico del paciente o proveedor de cuidado, puede ser necesario desviarse ascendente o descendentemente de las dosis descritas aquí.

La cantidad de ingrediente activo, o una sal activa o derivado del mismo, requerida para uso en el tratamiento variará no solamente con la sal particular seleccionada sino también con la ruta de administración, la naturaleza de la condición que está siendo tratada y la edad y condición del paciente y finalmente será a discreción del médico tratante o clínico. En general, el experto en la técnica entiende cómo extrapolar los datos *in vivo* obtenidos de un sistema modelo a otro, por ejemplo, un modelo de animal a un humano. Típicamente, modelos de animal incluyen, pero no se limitan a, los modelos de diabetes en roedores como se describen en el Ejemplo 1, *infra*; el modelo de aterosclerosis de ratón como se describe en el Ejemplo 2, *infra*; o el modelo de aterosclerosis de animal *in vivo* como se describe en el Ejemplo 5, *infra*. En algunas circunstancias, estas extrapolaciones pueden basarse meramente en el peso del modelo de animal en comparación con otro, tal como un mamífero, preferiblemente un humano, sin embargo, más usualmente, estas extrapolaciones no se basan simplemente en las diferencias de peso, sino que incorporan una variedad de factores. Los factores representativos incluyen el tipo, edad, peso, sexo, dieta y condición médica del paciente, la severidad de la enfermedad, la ruta de administración, consideraciones farmacológicas tales como la actividad, eficacia, farmacocinética y perfiles de toxicología del compuesto particular empleado, si se utiliza un sistema de entrega de fármaco, o si se está tratando un estado de enfermedad agudo o crónico conducido o si compuestos activos adicionales son administrados en adición a los compuestos de Formula (I) y como parte de una combinación de fármaco. El regimen de dosis para tratar una condición de enfermedad con los compuestos y/o composiciones de esta invención se seleccionan de acuerdo con una variedad de factores, tales como los citados anteriormente. Así, el regimen de dosis real empleado puede variar ampliamente y por lo tanto, puede desviarse de un regimen de dosis preferido y el experto en la técnica reconocerá qué dosis y régimen de dosis fuera de estos rangos típicos se puede probar y, cuando sea apropiado, se puede usar en los métodos de esta invención.

La dosis deseada puede convenientemente estar presentada en una sola dosis o como dosis divididas administradas a intervalos apropiados, por ejemplo, como dos, tres, cuatro o más sub-dosis por día. La sub-dosis en sí puede estar adicionalmente dividida, e.g., en un número de administraciones libremente espaciadas discretas. La dosis diaria puede estar dividida, especialmente cuando se considera apropiado administrar cantidades relativamente grandes, en varias, por ejemplo 2, 3 o 4, administraciones parciales. Si es apropiado, dependiendo del comportamiento del individuo, puede ser necesario desviarse ascendente o descendentemente de la dosis diaria indicada.

Los compuestos de la presente invención pueden ser administrados en una amplia variedad de formas de dosis orale y parenterales. Será obvio para los expertos en la técnica que las siguientes formas de dosis pueden comprender, como el componente activo, ya sea un compuesto de la invención o una sal farmacéuticamente aceptable de un compuesto de la invención.

Para preparar las composiciones farmacéuticas de los compuestos de la presente invención, los vehículos farmacéuticamente aceptables pueden ser sólidos o líquidos. Las preparaciones en forma sólida incluyen polvos, tabletas, píldoras, cápsulas, cachets, supositorios, y gránulos dispersables. Un vehículo sólido puede ser una o más sustancias que también pueden actuar como diluyentes, agentes saborizantes, solubilizantes, lubricantes, agentes de suspensión, aglutinantes, preservativos, agentes desintegrantes de tableta, o un material encapsulante.

En polvos, el vehículo es un sólido finamente dividido que está en una mezcla con el componente activo finamente dividido.

En tabletas, el componente activo está mezclado con el vehículo que tiene la capacidad aglutinante necesaria en proporciones adecuadas y compoactados a la forma y tamaño deseados.

Los polvos y las tabletas pueden contener diferentes cantidades en porcentaje del compuesto activo. Una cantidad representativa en un polvo o tableta puede contener de 0.5 a aproximadamente 90 por ciento del

compuesto activo; sin embargo, un técnico sabría cuando son necesarias cantidades por fuera de este rango. Los vehículos adecuados para polvos y tabletas son carbonato de magnesio, estearato de magnesio, talco, azúcar, lactosa, pectina, dextrina, almidón, gelatina, tragacanto, metilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio, una cera de bajo punto de fusión, manteca de cacao, y similares. El término "preparación" pretende incluir la formulación del compuesto activo con material encapsulante como vehículo que provee una cápsula en la cual el componente activo, con o son vehículos, está rodeado por un vehículo, que está así en asociación con el mismo. Igualmente se incluyen los cachets y trociscos. Las tabletas, polvos, cápsulas, píldoras, cachets, y trociscos se pueden usar como formas sólidas adecuadas para administración oral.

Para preparar supositorios, una cera de bajo punto de fusión, tal como una mezcla de glicéridos de ácido graso o manteca de cacao, es primero fundida y el componente activo es dispersado homogéneamente allí, mientras se agita. La mezcla homogénea fundida es entonces vertida en moldes diseñados, dejada enfriar y, de esta forma solidificada.

Las formulaciones adecuadas para administración vaginal se pueden presentar como supositorios vaginales, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o atomizadores que contienen además del ingrediente activo los vehículos que son conocidos en la técnica como apropiados.

Las preparaciones de forma líquida incluyen soluciones, suspensiones, y emulsiones, por ejemplo, agua o soluciones de agua-propilén glicol. Por ejemplo, las preparaciones líquidas de inyección parenteral pueden ser formuladas como soluciones en solución de polietilén glicol. Las preparaciones inyectables, por ejemplo, suspensiones acuosas u oleaginosas inyectables estériles pueden ser formuladas de acuerdo con la técnica conocida usando agentes de dispersión o humectantes adecuados y agentes de suspensión. La preparación inyectable estéril también puede ser una solución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o solvente no tóxico, parenteralmente aceptable, por ejemplo, como una solución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y solventes aceptables que se pueden emplear están agua, solución de Ringer, y solución isotónica de cloruro de sodio. En adición, los aceites fijos estériles se emplean convenientemente

como un solvente o medio de suspensión. Para este propósito se puede emplear cualquier aceite fijo insulso incluyendo mono o diglicéridos sintéticos. Adicionalmente, los ácidos grasos tales como ácido oléico encuentran uso en la preparación de inyectables.

Los compuestos de acuerdo con la presente invención pueden así ser formuladas para administración parenteral (e.g. mediante inyección, por ejemplo inyección de bolo o infusión continua) y se pueden presentar en forma de dosis de unidad en ampollas, jeringas pre-llenadas, infusión de volumen pequeño o en contenedores de dosis múltiples con un preservativo adicionado. Las composiciones pueden tomar formas tales como suspensiones, soluciones, o emulsiones en vehículos acuosos u oleosos, y puede contener agentes formuladores tales como agentes de suspensión, estabilizantes y/o agentes de dispersión. Alternativamente, el ingrediente activo puede estar en forma de polvo, obtenido por aislamiento aséptico de solución estéril o por liofilización de la solución, para constitución con un vehículo adecuado, e.g. agua estéril libre de pirógeno antes de uso.

Las soluciones acuosas adecuadas para uso oral se pueden preparar disolviendo el componente activo en agua y agregando colorantes, saborizantes, estabilizantes y agentes espesantes adecuados, según sea necesario.

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

También se incluyen las preparaciones de forma sólida que están destinadas para ser convertidas, justo antes de uso, a preparaciones de forma líquida para administración oral. Tales formas líquidas incluyen soluciones, suspensiones, y emulsiones. Estas preparaciones pueden contener, además del componente activo, colorantes, saborizantes, estabilizantes, amortiguadores, endulzantes naturales o artificiales, dispersantes, espesantes, agentes solubilizantes y similares.

Para administración tópica a la epidermis, los compuestos de acuerdo con la invención pueden ser formulados como ungüentos, cremas o lociones, o como un parche transdérmico.

Los ungüentos y cremas pueden, por ejemplo, ser formulados con una base acuosa u oleosa con la adición de agentes espesantes y/o gelantes adecuados. Las lociones pueden ser formulados con una base acuosa u oleosa y contendrán en general uno o más agentes emulsificantes, agentes estabilizantes, agentes dispersantes, agentes de suspensión, agentes espesantes, o agentes colorantes.

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

Las soluciones o suspensiones son aplicadas directamente a la cavidad nasal por medios convencionales, por ejemplo con un gotero, pipeta o atomizador. Las formulaciones se pueden proveer en forma de dosis simple o múltiple. En el último caso de un gotero o pipeta, esto puede ser logrado por el paciente administrando un volumen apropiado, predeterminado de la solución o suspensión. En el caso de un atomizador, esto se puede ser logrado por ejemplo mediante una bomba rociadora atomizadora dosificada.

La administración al tracto respiratorio también se puede lograr mediante una formulación en aerosol en la cual el ingrediente activo se provee en un paquete presurizado con un propelente adecuado. Si los compuestos de la Formula (I) o composiciones farmacéuticas que los comprenden son administradas como aerosoles, por ejemplo como aerosoles nasales o por inhalación, esto puede realizarse, por ejemplo, usando un atomizador, un nebulizador, un nebulizador de bomba, un aparato de inhalación, un inhalador dosificado o un inhalador de polvo seco. Las formas farmacéuticas para administración de los compuestos de la Formula (I) como un aerosol se pueden preparar por procesos bien conocidos por el experto en la técnica. Para su preparación, por ejemplo, se pueden emplear soluciones o

dispersiones de los compuestos de la Formula (I) en agua, mezclas de agua/alcohol o soluciones salinas adecuadas usando aditivos usuales, por ejemplo bencil alcohol u otros preservativos adecuados, mejoradores de absorción para aumentar la biodisponibilidad, solubilizantes, dispersantes y otros, y, si es apropiado, propelentes usuales, por ejemplo incluyen dióxido de carbono, CFC's, tales como, diclorodifluorometano, triclorofluorometano, o diclorotetrafluoroetano; y similares. El aerosol puede convenientemente contener también un surfactante tal como lecitina. La dosis del fármaco puede ser controlada por la provisión de una válvula dosificada.

En las formulaciones destinadas para administración al tracto respiratorio, incluyendo formulaciones intranasales, el compuesto tendrá generalmente un tamaño de partícula pequeño, por ejemplo del orden de 10 micrones o menos. Tal tamaño de partícula se puede obtener por medios conocidos en la técnica, por ejemplo por micronización. Cuando se desea, se pueden emplear formulaciones adaptadas para dar liberación sostenida del ingrediente activo.

Alternativamente, los ingredientes activos pueden proveerse en la forma de un polvo seco, por ejemplo, una mezcla en polvo del compuesto en una base de polvo adecuada tal como lactosa, almidón, derivados de almidón tales como hidroxipropilmetil celulosa y polivinilpirrolidona (PVP). Convenientemente el vehículo en polvo formará un gel en la cavidad nasal. La composición del polvo puede estar presentada en forma de dosis de unidad, por ejemplo en cápsulas o cartuchos de, e.g., gelatina, o paquetes de ampollas desde los cuales el polvo puede ser administrado mediante un inhalador.

Las preparaciones farmacéuticas están preferiblemente en formas de dosis de unidad. En tal forma, la preparación está subdividida en dosis de unidad que contienen las cantidades apropiadas del componente activo. La forma de dosis de unidad puede ser una preparación empacada, el paquete contiene cantidades discretas de preparación, tales como tabletas empacadas, cápsulas, y polvos en viales o ampollas. Además, la forma de dosis de unidad puede ser una cápsula, tableta, cachet, o trocisco en sí, o puede ser del número apropiado de cualquiera de estas en forma empacada.

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

Los compuestos de la presente invención pueden ser convertidos a "pro-fármacos". El término "pro-fármaco" se refiere a compuestos que han sido modificados con grupos químicos específicos conocidos en la técnica y cuando son administrados a un individuo, estos grupos sufren biotransformación para dar el compuesto base. Los pro-fármacos pueden entonces ser vistos como compuestos de la invención que contienen uno o más grupos protectores no tóxicos especializados usados de una forma transitoria para alterar o eliminar una propiedad del compuesto. En general, el criterio de "pro-fármaco" se utiliza par facilitar la absorción oral. Una discusión total se provee en T. Higuchi y V. Stella, "Pro-drugs as Novel Delivery Systems," Vol. 14 de A.C.S. Symposium Series, y en Bioreversible Carriers in Drug Design, ed. Edward B. Roche, American Pharmaceutical Association and Pergamon Press, 1987, ambos están incorporados aquí para referencia en su totalidad.

Terapia de Combinación:

Aunque los compuestos de la presente invención pueden ser administrados como el agente farmacéutico activo solo (i.e., mono-terapia), también se pueden usar en combinación con otros agentes farmacéuticos (i.e., terapia de combinación), tal como, para el tratamiento de las enfermedades/condiciones/trastornos descritos aquí. Por lo tanto, también se describen aquí los métodos para el tratamiento de enfermedades metabólicas relacionadas que comprende administrar a un individuo en necesidad de tal tratamiento, una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la presente invención en combinación con uno o más agentes farmacéuticos adicionales descritos aquí.

Los agentes farmacéuticos adecuados que se pueden usar en combinación con los compuestos de la presente invención incluyen agentes anti-obesidad tales como inhibidores de la secreción de apolipoproteínaB /roteína de transferencia de triglicérido microsomal (apo-B/MTP), agonistas de MCR-4,

agonistas de colescistoquinina-A (CCK-A), inhibidores de la recaptación de serotonina y norepinefrina (por ejemplo, sibutramina), agentes simpatomiméticos, agonistas del receptor adrenérgico β_3 , agonistas de dopamina (por ejemplo, bromocriptina), análogos del receptor de hormona que estimula melanocito, antagonistas del receptor 1 canabinoide [por ejemplo, SR141716: *N*-(piperidin-1-il)-5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4-metil-1*H*-pirazol-3-carboxamida], antagonistas de la hormona que concentra melanina, leptonas (la proteína OB), análogos de leptina, agonistas del receptor de leptina, antagonistas de galanina, inhibidores de lipasa (tal como tetrahidrolipstatina, i.e., Orlistat), agentes anoréxicos (tal como agonista de bombesina), antagonistas del Neuropéptido Y, agentes tiromiméticos, deshidroepiandrosterona o un análogo de la misma, agonistas o antagonistas del receptor glucocorticoide, antagonistas del receptor de orexina, antagonistas de la proteína de enlace de urocortina, agonistas del receptor 1 del tipo glucagon, factores neurotróficos ciliares (tales como Axokine® disponible en Regeneron Pharmaceuticals, Inc., Tarrytown, NY y Procter & Gamble Company, Cincinnati, OH), proteínas agutí relacionadas humanas (AGRP), antagonistas del receptor de grelina, antagonistas o agonistas reversos del receptor 3 de histamina, agonistas del receptor U de neuromedina, agentes anoréxicos noradrenérgicos (por ejemplo, fentermina, manzindol, y similares) y supresores del apetito (por ejemplo, bupropion).

Otros agentes anti-obesidad, incluyendo los agentes indicados *infra*, son bien conocidos, o serán fácilmente obvios a la luz de la revelación presente, para el experto en la técnica.

En algunas realizaciones, los agentes anti-obesidad se seleccionan del grupo consistente de orlistat, sibutramina, bromocriptina, efedrina, leptina, y pseudoefedrina. En una realización adicional, los compuestos de la presente invención y las terapias de combinación son administradas en conjunción con ejercicio y/o una dieta sensible.

Se entenderá que el alcance de la terapia de combinación de los compuestos de la presente invención con otros agentes anti-obesidad, agentes anoréxicos, supresores del apetito y agentes relacionados, no se limita a aquellos listados anteriormente, sino que incluye en principio

cualquier combinación con cualquier agente farmacéutico o composición farmacéutica útil para el tratamiento de individuos con sobrepeso u obesos.

Otros agentes farmacéuticos adecuados, además de agentes anti-obesidad, que se pueden usar en combinación con los compuestos de la presente invención incluyen agentes útiles en el tratamiento de trastornos concomitantes. El tratamiento de tales trastornos incluye el uso de uno o más agentes farmacéuticos conocidos en la técnica que pertenecen a las clases de fármacos referidas como, pero sin limitarse a, las siguientes: sulfonilureas, meglitinidas, biguanidas, inhibidores de α -glucosidasa, agonistas del receptor γ activado por proliferadores de peroxisoma (i.e., PPAR- γ), insulina, análogos de insulina, inhibidores de reductasa HMG-CoA, fármacos que disminuyen el colesterol (por ejemplo, fibratos que incluyen: fenofibrato, bezafibrato, gemfibrozil, clofibrato y similares; secuestrantes del ácido biliar que incluyen: colestiramina, colestipol y similares; y niacina), agentes antiplaqueta (por ejemplo, aspirina y antagonistas del receptor adenosin difosfato que incluyen: clopidogrel, ticlopidina y similares), inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina, antagonistas del receptor de angiotensina II y adiponectina. De acuerdo con un aspecto de la presente invención, un compuesto de la presente se puede usar en combinación con un agente farmacéutico, o agentes que pertenecen a una o más de las clases de fármacos citados aquí.

Se entiende que el alcance de la terapia de combinación de los compuestos de la presente invención con otros agentes farmacéuticos no se limita a los listados aquí, *supra* o *infra*, pero incluye en principio cualquier combinación con cualquier agente farmacéutico o composición farmacéutica útil para el tratamiento de enfermedades, condiciones o trastornos que están ligados a trastornos metabólicos relacionados.

También se describen aquí los métodos para el tratamiento de una enfermedad, trastorno o condición descrita aquí que comprende administrar a un individuo en necesidad de tal tratamiento una cantidad terapéuticamente efectiva o dosis de un compuesto de la presente invención en combinación con al menos un agente farmacéutico seleccionado del grupo que consiste de: sulfonilureas, meglitinidas, biguanidas, inhibidores de

α -glucosidasa, agonistas del receptor γ activado por proliferadores de peroxisoma (i.e., PPAR- γ), insulina, análogos de insulina, inhibidores de reductasa HMG-CoA, fármacos que disminuyen el colesterol (por ejemplo, fibratos que incluyen: fenofibrato, bezafibrato, gemfibrozil, clofibrato y similares; secuestrantes del ácido biliar que incluyen: colestiramina, colestipol y similares; y niacina), agentes antiplaqueta (por ejemplo, aspirina y antagonistas del receptor adenosin difosfato que incluyen clopidogrel, ticlopidina y similares), inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina, antagonistas del receptor de angiotensina II y adiponectina. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende además uno o más agentes seleccionados del grupo que consiste de inhibidor de α -glucosidasa, inhibidor de aldosa reductasa, biguanida, inhibidor de reductasa HMG-CoA, inhibidores de la síntesis de escualeno, fibrato, mejorador del catabolismo LDL, inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina, mejorador de la secreción de insulina y tiazolidindiona.

Un aspecto de la presente invención abarca composiciones farmacéuticas que comprenden al menos un compuesto de acuerdo con la Formula (I), como se describen aquí. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende además uno o más agentes seleccionados del grupo que consiste de, por ejemplo, inhibidor de α -glucosidasa, inhibidor de aldosa reductasa, biguanida, inhibidor de reductasa HMG-CoA, inhibidor de la síntesis de escualeno, fibrato, mejorador del catabolismo LDL, inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina, mejorador de la secreción de insulina y tiazolidindiona.

Agentes farmacéuticos adecuados que se pueden usar en conjunción con los compuestos de la presente invención incluyen inhibidores de α -glucosidasa. Los inhibidores de α -glucosidasa pertenecen a la clase de fármacos que inhiben competitivamente las enzimas digestivas tales como α -amilasa, maltasa, α -dextrinasa, sucrasa, etc., en el páncreas y o intestino delgado. La inhibición reversible mediante inhibidores de α -glucosidasa retarda, disminuye o reduce de otra forma los niveles de glucosa en la sangre retardando la digestión de almidón y azúcares. Algunos ejemplos representativos de inhibidores de α -glucosidasa incluyen acarbosa, N-(1,3-

dihidroxi-2-propil)valiolamina (nombre genérico; voglibosa), miglitol, e inhibidores de α -glucosidasa conocidos en la técnica.

Los agentes farmacéuticos adecuados que se pueden usar en conjunción con los compuestos de la presente invención incluyen sulfonilúreas. Las sulfonilúreas (SU) son fármacos que promueven la secreción de insulina de las células pancreáticas transmitiendo señales de secreción de insulina via receptores SU en las membranas celulares. Ejemplos de las sulfonilúreas incluyen gliburida, glipizida, glimepirida y otras sulfonilúreas conocidas en la técnica.

Los agentes farmacéuticos adecuados que se pueden usar en conjunción con los compuestos de la presente invención incluyen las meglitinidas. Las meglitinidas son derivados de ácido benzóico que representan una clase novedosa de secretagogos de insulina. Estos agentes se dirigen a la hiperglicemia posprandial y muestran eficacia comparable a las sulfonilúreas para reducir HbA_{1c}. Ejemplos de meglitinidas incluyen repaglinida, nateglinida y otras meglitinidas conocidas en la técnica.

Los agentes farmacéuticos adecuados que se pueden usar en conjunción con los compuestos de la presente invención incluyen las biguanidas. Las biguanidas representan una clase de fármacos que estimulan la glicolisis anaeróbica, aumentan la sensibilidad a la insulina en los tejidos periféricos, inhiben la absorción de glucosa desde el intestino, suprimen la gluconeogénesis hepática, e inhiben la oxidación de ácido graso. Ejemplos de biguanidas incluyen fenformina, metformina, buformina, y biguanidas conocidas en la técnica.

Los agentes farmacéuticos que se pueden usar en conjunción con los compuestos de la presente invención incluyen los inhibidores de α -glucosidasa. Los inhibidores de α -glucosidasa inhiben competitivamente enzimas digestivas tales como α -amilasa, maltasa, α -dextrinasa, sucrasa, etc., en el páncreas y o intestino delgado. La inhibición reversible por los inhibidores de α -glucosidasa retardan, disminuyen o reducen de otra forma los niveles de glucosa de la sangre retardando la digestión de almidón y

azúcares. Ejemplos de inhibidores de α -glucosidasa incluyen acarbosa, N-(1,3-dihidroxi-2-propil)valiolamina (nombre genérico; voglibosa), miglitol, e inhibidores de α -glucosidasa conocidos en la técnica.

Agentes farmacéuticos adecuados que se pueden usar en conjunción con los compuestos de la presente invención incluyen los agonistas del receptor γ y activador por proliferadores de peroxisoma (i.e., PPAR- γ). Los agonistas del receptor γ y activador por proliferadores de peroxisoma representan una clase de compuestos que activan el receptor PPAR- γ nuclear y por lo tanto regulan la transcripción de genes sensibles a insulina, involucrados en el control de la producción, transporte y utilización de glucosa. Los agentes en la clase también facilitan la regulación del metabolismo de ácido graso. Ejemplos de agonistas de PPAR- γ incluyen rosiglitazona, pioglitazona, tesaglitazar, netoglitazona, GW-409544, GW- 501516 y agonistas de PPAR- γ conocidos en la técnica.

Los agentes farmacéuticos adecuados que se pueden usar en conjunción con los compuestos de la presente invención incluyen los inhibidores de reductasa HMG-CoA. Los inhibidores de reductasa HMG-CoA son agentes también referidos como compuestos de estatina que pertenecen a una clase de fármacos que disminuyen los niveles de colesterol en la sangre inhibiendo la reductasa hidroximetilglutalilo CoA (HMG-CoA). La reductasa HMG-CoA es la enzima limitadora de velocidad en la biosíntesis de colesterol. Las estatinas disminuyen las concentraciones de LDL en el suero regulando ascendentemente la actividad de los receptores LDL y son responsables de limpiar de LDL la sangre. Algunos ejemplos representativos de compuestos de estatina incluyen rosuvaestatina, pravaestatina y sus sales sódicas, simvaestatina, lovaestatina, atorvaestatina, fluvaestatina, cerivaestatina, pitavaestatina, BMS's "superestatina", e inhibidores de reductasa HMG-CoA conocidos en la técnica.

Los agentes farmacéuticos adecuados que se pueden usar en cconjunción con los compuestos de la presente invención incluyen los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (ACE). Los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina pertenecen a la clase de fármacos que disminuyen parcialmente los niveles de glucosa de la sangre así como la

disminución de la presión sanguínea inhibiendo las enzimas convertidoras de angiotensina. Ejemplos de los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina incluyen captopril, enalapril, alacepril, delapril; ramipril, lisinopril, imidapril, benazepril, ceronapril, cilazapril, enalaprilat, fosinopril, moveltopril, perindopril, quinapril, espirapril, temocapril, trandolapril, e inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina conocidos en la técnica.

Agentes farmacéuticos adecuados que se pueden usar en conjunción con los compuestos de la presente invención incluyen los antagonistas del receptor de angiotensina II. Los antagonistas del receptor de angiotensina II se dirigen al subtipo I del receptor de angiotensina II I (i.e., ATI) y demuestran un efecto benéfico en la hipertensión. Ejemplos de antagonistas del receptor de angiotensina II incluyen losartan (y la forma de sal de potasio), y antagonistas del receptor de angiotensina II conocidos en la técnica.

Otros tratamientos para una o más de las enfermedades citadas aquí incluyen el uso de uno o más agentes farmacéuticos conocidos en la técnica que pertenecen a las clases de fármacos referidos a, pero sin limitarse a, los siguientes: antagonistas de amilina (por ejemplo, pramlintida), secretagogos de insulina (por ejemplo, agonistas de GLP-1; exendin-4; insulínotropina (NN2211); inhibidores de dipeptil peptidasa (por ejemplo, NVP-DPP-728), inhibidores de acil CoA colesterol acetil transferasa (por ejemplo, Ezetimiba, eflucimiba, y compuestos similares), inhibidores de la absorción de colesterol (por ejemplo, ezetimiba, pamaquesida y compuestos similares), inhibidores de la proteína de transferencia de éster de colesterol (por ejemplo, CP-529414, JTT-705, CETi-1, torcetrapib y compuestos similares), inhibidores de la proteína de transferencia de triglicérido microsomal (por ejemplo, implitapida, y compuestos similares), moduladores de colesterol (por ejemplo, NO-1886, y compuestos similares), moduladores de ácido biliar (por ejemplo, GT103-279 y compuestos similares) e inhibidores de la síntesis de escualeno.

Los inhibidores de la síntesis de escualeno pertenecen a una clase de fármacos que disminuyen los niveles de colesterol de la sangre inhibiendo la síntesis de escualeno. Ejemplos de los inhibidores de la síntesis de

escualeno incluyen ácido (S)- α -[bis[2,2-dimetil-1-oxopropoxi]metoxi]fosfinil]-3-fenoxibencenobutanosulfónico, sal monopotásica (BMS-188494) e inhibidores de la síntesis de escualeno conocidos en la técnica.

Como se describe aquí, la combinación se puede usar mezclando los componentes activos respectivos ya sea todos juntos o independientemente con un vehículo farmacéuticamente aceptable, excipiente, aglutinante, diluyente, etc., descrito aquí anteriormente, y administrando la mezcla o mezclas oralmente o no oralmente como una composición farmacéutica. Cuando un compuesto o una mezcla de compuestos de Formula (I) son administrados como una terapia de combinación con otro compuesto activo, los agentes terapéuticos pueden ser formulados como composiciones farmacéuticas separadas administradas al mismo tiempo o a diferentes tiempos, o los agentes terapéuticos pueden ser administrados como una sola composición.

Como se describe aquí, la combinación de un compuesto de la presente invención y agente farmacéutico se puede preparar mezclado los componentes activos respectivos ya sea todos juntos o independientemente con un vehículo farmacéuticamente aceptable, excipiente, aglutinante, diluyente, etc., descritos aquí, y administrando la mezcla o mezclas oralmente o no oralmente como una composición farmacéutica. Cuando un compuesto o una mezcla de compuestos de Formula (I) son administrados como una terapia de combinación con otro compuesto activo, los agentes terapéuticos pueden ser formulados como una composición farmacéutica separada administrada al mismo tiempo o a diferentes tiempos, o los agentes terapéuticos se pueden administrar como una sola composición.

Compuestos Marcados y Métodos de Ensayo

Otro objeto de la presente invención se relaciona con compuestos radio marcados de Formula (I) que son útiles no solo en la radio-imagen sino en ensayos, tanto in vitro e in vivo, para localizar y cuantificar RUP25 en muestras de tejido, incluyendo humano, y para identificar ligandos de RUP25 mediante la inhibición de enlace de un compuesto radio-marcado. Un objeto

adicional de esta invención es incluir ensayos novedosos de RUP25 de los cuales hacen parte tales compuestos radio-marcados.

La presente invención abarca compuestos de Formula (I) marcados isotópicamente y cualquier sub-género de estos, tales como, pero sin limitarse a, las Formulas (Ia) a (Iz); y (IIa) a (IIId). Los compuestos "isotópicamente" o "radio-marcados" son aquellos que son idénticos a los compuestos revelados aquí, pero por el hecho que uno o más átomos son reemplazados o sustituidos por un átomo que tiene una masa atómica o número de masa diferente de la masa atómica o número de masa típicamente encontrado en la naturaleza (i.e., que se encuentra naturalmente). Los radionúclidos adecuados que pueden ser incorporados en los compuestos de la presente invención incluyen, pero no se limitan a ^2H (también escrito como D para deuterio), ^3H (también escrito como T para tritio), ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{13}N , ^{15}N , ^{15}O , ^{17}O , ^{18}O , ^{18}F , ^{35}S , ^{36}Cl , ^{82}Br , ^{75}Br , ^{76}Br , ^{77}Br , ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I y ^{131}I . El radionúclido que está incorporado en los compuestos radio-marcados presentes dependerá de la solicitud específica de ese compuesto radio-marcado. Por ejemplo, para el marcado de RUP25 *in vitro* y ensayos de competencia, los compuestos que incorporan ^3H , ^{14}C , ^{82}Br , ^{125}I , ^{131}I , ^{35}S o será generalmente el más útil. Para aplicaciones de radio-imagen ^{11}C , ^{18}F , ^{125}I , ^{123}I , ^{124}I , ^{131}I , ^{75}Br , ^{76}Br o ^{77}Br serán generalmente los más útiles.

Se entenderá que un compuesto "radio-marcado" o "marcado" es un compuesto de Formula (I) que tiene incorporado al menos un radionúclido; en algunas realizaciones el radionúclido se selecciona del grupo que consiste de ^3H , ^{14}C , ^{125}I , ^{35}S y ^{82}Br .

Ciertos compuestos isotópicamente marcados de la presente invención son útiles en ensayos de distribución de compuesto y/o tejido sustrato. En algunas realizaciones los isótopos de radionúclido ^3H y/o ^{14}C son útiles en estos estudios. Adicionalmente, la sustitución con isótopos más pesados tal como deuterio (i.e., ^2H) puede producir ciertas ventajas terapéuticas resultantes de mayor estabilidad metabólica (e.g., vida media *in vivo* aumentada o requerimientos de dosis reducidos) y por lo tanto, pueden ser preferidos en algunas circunstancias. Los compuestos isotópicamente marcados de la presente invención pueden generalmente ser preparados

mediante los siguientes procedimientos análogos a los revelados en los Esquemas *supra* y Ejemplos *infra*, sustituyendo un reactivo marcado isotópicamente por un reactivo no marcado isotópicamente. Otros métodos sintéticos que son útiles se discuten *infra*. Más aún, se entenderá que todos los átomos representados en los compuestos de la invención pueden ser el isótopo que se encuentra más comúnmente de tales átomos o el radio-isótopo más escaso o isótopo no radio-activo.

Los métodos sintéticos para incorporar radio-isótopos en los compuestos orgánicos son aplicables a los compuestos de la invención y son bien conocidos en la técnica. Estos métodos sintéticos, por ejemplo, incorporan niveles de actividad de tritio en moléculas objetivo, y son los siguientes:

- A. Reducción catalítica con Gas Tritio – Este procedimiento produce normalmente productos de actividad específica alta y requiere precursores halogenados o insaturados.
- B. Reducción con Borohidruro de sodio [^3H] – Este procedimiento es bastante barato y requiere precursores que contienen grupos funcionales reducibles tales como aldehídos, cetonas, lactonas, ésteres, y similares.
- C. Reducción con Hidruro de Litio Aluminio [^3H] – Este procedimiento ofrece productos en actividades específicas casi teóricas. También requiere precursores que contienen grupos funcionales reducibles tales como aldehídos, cetonas, lactonas, ésteres, y similares.
- D. Marcado de exposición de Gas Tritio – Este procedimiento involucra la exposición de los precursores que contienen protones intercambiables a gas tritio en presencia de un catalizador adecuado.
- E. N-Metilación usando Yoduro de Metilo [^3H] – Este procedimiento se emplea usualmente para preparar productos de O-metilo o N-metilo (^3H) tratando los precursores apropiados con yoduro de metilo de actividad específica alta (^3H). Este método en general

permite actividad específica mayor, tal como por ejemplo, aproximadamente 70-90 Ci/mmol.

Los métodos sintéticos para incorporar niveles de actividad de ^{125}I en moléculas objetivo incluyen:

A. Sandmeyer y reacciones similares – Este procedimiento transforma una amina de arilo o heteroarilo en una sal de diazonio, tal como una sal de tetrafluoroborato, y posteriormente al compuesto marcado con ^{125}I usando Na^{125}I . Un procedimiento representado se reportó en Zhu, D. -G. y colaboradores en *J. Org. Chem.* 2002, 67, 943-948.

B. Orto ^{125}I yodación de fenoles – Este procedimiento permite la incorporación de ^{125}I en la posición orto de un fenol como se reportó en Collier, T. L. y colaboradores en *J. Labeled Compd Radiopharm.* 1999, 42, S264-S266.

C. Intercambio de bromuro de arilo y heteroarilo con ^{125}I – Este método es generalmente un proceso de dos pasos. El primer paso es la conversión del bromuro de arilo o heteroarilo al intermediario tri-alquilestaño correspondiente usando por ejemplo, una reacción catalizada con Pd [i.e. $\text{Pd}(\text{Ph}_3\text{P})_4$] o a través de un arilo o heteroarilo litio, en la presencia de un tri-alquilestañoaluro o hexaalquildiestaño [e.g., $(\text{CH}_3)_3\text{SnSn}(\text{CH}_3)_3$]. Un procedimiento representado fue reportado en Bas, M.-D. y colaboradores en *J. Labeled Compd Radiopharm.* 2001, 44, S280-S282.

Un compuesto RUP25 radio-marcado de Formula (I) se puede usar en un ensayo de selección para identificar/evaluar los compuestos. En términos generales, un compuesto nuevo sintetizado o identificado (i.e., compuesto de prueba) puede ser evaluado para su habilidad para reducir el enlace del compuesto radio-marcado de Formula (I) al receptor RUP25. En consecuencia, la habilidad de un compuesto de prueba para competir con el "compuesto radio-marcado de Formula (I)" para el enlace al receptor RUP25 se correlaciona directamente con su afinidad de enlace.

Los compuestos marcados de la presente invención se enlazan al receptor RUP25. En una realización el compuesto marcado tiene un IC_{50} de menos de aproximadamente 500 μM , en otra realización, el compuesto marcado tiene un IC_{50} de menos de aproximadamente 100 μM , en ya otra realización, el compuesto marcado tiene un IC_{50} de menos de aproximadamente 10 μM , en ya otra realización, el compuesto marcado tiene un IC_{50} de menos de aproximadamente 1 μM , y aún en otra realización, el inhibidor marcado tiene un IC_{50} de menos de aproximadamente 0.1 μM .

Otros usos de los receptores y métodos revelados serán obvios para los expertos en la técnica basándose en, *inter alia*, una revisión de esta revelación.

EJEMPLOS

Los siguientes Ejemplos se proveen para propósitos ilustrativos y no como medios de limitación. El de conocimiento ordinario en la técnica podrá diseñar ensayos y métodos equivalentes con base en esta revelación, todos los cuales forman parte de la presente invención.

Ejemplo

MODELOS DE DIABETES DE ROEDORES

Se ha desarrollado modelos de roedor de diabetes tipo 2 asociados con obesidad y resistencia a la insulina. Los modelos genéricos tales como db/db y ob/ob [ver Diabetes (1982) 31:1-6] en ratones y fa/fa en ratas Zucker han sido desarrollados para el entendimiento de la patofisiología de la enfermedad y para probar compuestos terapéuticos candidatos [Diabetes (1983) 32:830-838; Annu Rep Sankyo Res Lab (1994) 46:1-57]. Los animales homocigóticos, ratones C57 BL/KsJ-db/db desarrollados por Jackson Laboratory son obesos, hiperglicémicos, hiperinsulémicos y resistentes a la insulina [J Clin Invest (1990) 85: 962-967], mientras que los heterocigóticos son delgados y glicémicos normales. En el modelo db/db, los ratones desarrollan progresivamente insulinopenia con la edad, una

característica observada comúnmente en los últimos estados de la diabetes tipo 2 humana cuando los niveles de azúcar se controlan insuficientemente. Como este modelo asemeja la diabetes tipo 2 humana, los compuestos de la presente invención son probados para actividades que incluyen, pero no se limitan a, disminución de la glucosa y triglicéridos del plasma. Las ratas Zucker (fa/fa) son severamente obesas, hiperinsulinémicas, y resistentes a la insulina [Coleman, Diabetes (1982)31 : 1; E Shafrir in Diabetes Mellitus, H Rifkin y D Porte, Jr, Eds [Elsevier Science Publishing Co, New York, ed. 4,(1990), pp.299-340]], y la mutación fa/fa puede ser el equivalente de rata de la mutación db de murina [Friedman et al, Cell (1992) 69: 217-220; Truett et al, Proc Natl Acad Sci USA (1991) 88: 7806]. Los ratones Tuppy (tub/tub) se caracterizan por obesidad, resistencia a la insulina moderada e hiperinsulinemia sin hiperglicemia significativa [Coleman et al, Heredity (1990) 81:424].

La presente invención abarca compuestos de la invención para reducir la resistencia a la insulina e hiperglicemia en cualquiera o todos los modelos de diabetes de roedor anteriores, en humanos con diabetes tipo 2 u otros trastornos metabólicos relacionados preferidos o trastornos del metabolismo de lípido descritos anteriormente, o en modelos basados en otros mamíferos. Se probará la glucosa y los niveles de insulina en el plasma, así como otros factores que incluyen, pero no se limitan a, ácidos grasos libres en el plasma y triglicéridos.

Ensayo In Vivo para la Actividad Anti-Hiperglicémica de los Compuestos de la Invención

Ratones diabéticos obesos alterados genéticamente (db/db) (machos, de 7-9 semanas de edad) son albergados (7-9 ratones/jaula) bajo condiciones de laboratorio estándar a 22 °C y 50% de humedad relativa, y se mantuvieron a dieta de comida para roedor Purina y agua *ad libitum*. Antes del tratamiento, la sangre es recolectada de la vena de la cola de cada animal y se determinan las concentraciones de glucosa en la sangre usando el Sistema de Monitor de Glucosa Básico de Un Toque (One Touch Basic Glucose Monitor System) (Lifescan). Se usan ratones que tienen niveles de glucosa en el plasma entre 250 a 500 mg/dl. Cada grupo de tratamiento consiste de siete ratones que están distribuidos de forma que los niveles de glucos

medios son equivalentes en cada grupo al inicio del estudio. Los ratones db/db son dosificados mediante bombas micro-osmóticas, insertadas usando anestesia de isoflurano, para proveer los compuestos de la invención, solución salina, o un compuesto irrelevante a los ratones subcutáneamente (s. c.). La sangre es muestreada de la vena de la cola a intervalos posteriores y analizada para concentraciones de glucosa en la sangre. Las diferencias significativas entre grupos (comparando los compuestos de la invención con tratados con solución salina) son evaluadas usando la prueba t de Student.

Ejemplo 2

MODELO DE ATEROSCLEROSIS DE RATON

Ratones deficientes en adiponectina generados mediante exclusión del gen de adiponectina han mostrado estar predispuestos a aterosclerosis y ser resistentes a la insulina. Los ratones también son un modelo adecuado para la enfermedad cardíaca isquémica [Matsuda, M et al. J Biol Chem (2002) Julio, y referencias citadas allí, cuyas revelaciones están incorporadas aquí para referencia en su totalidad].

Los ratones excluidos de adiponectina son albergados (7-9 ratones/jaula) bajo condiciones de laboratorio estándar a 22 °C y 50% de humedad relativa. Los ratones son dosificados mediante bombas micro-osmóticas, insertadas usando anestesia de isoflurano, para proveer los compuestos de la invención, solución salina, o un compuesto irrelevante a los ratones subcutáneamente (s.c.). Se determina el espesamiento neointimal y la enfermedad cardíaca isquémica para diferentes grupos de ratones sacrificados a diferentes intervalos de tiempo.

Se evalúan las diferencias significativas entre grupos (comparando los compuestos de la invención con tratados con solución salina) usando la prueba t de Student.

207

Ejemplo 3

Actividad Biológica *In Vitro*

Se usó un kit Flash Plate™ modificado de Adenilil Ciclasa (New England Nuclear; No. de Catálogo SMP004A) para la identificación directa de los compuestos candidatos como agonistas a hRUP25 de acuerdo con el siguiente protocolo. El término hRUP25 incluye las secuencias humanas encontradas en el GenBank No. de Acceso No. NM_177551 para el nucleótido y el GenBank No. de Acceso No. NP 808219 para el polipéptido, y variantes alélicas que se encuentran naturalmente, ortólogos mamíferos, y mutantes recombinantes de las mismas.

Células CHO establemente transfectadas con un vector de expresión que codifica hRUP25 y cultivadas bajo condición permisiva para la expresión de la superficie celular del receptor hRUP25 codificado, fueron cultivadas en frascos por un medio no enzimático. Las células fueron lavadas en PBS y resuspendidas en el Amortiguador de Prueba del fabricante. Las células vivas fueron contadas usando un hemacitómetro y exclusión con azul de Tripano, y la concentración celular se ajustó hasta 2×10^6 células/ml. Los estándares de cAMP y el Amortiguador de Detección (que comprende 2 μ Ci de trazador [^{125} I]-cAMP (100 μ l) a 11 ml de Amortiguador de Detección) se prepararon y mantuvieron de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Los compuestos candidatos identificados como antes (si están congelados, descongelados a temperatura ambiente) se agregaron a sus agujeros respectivos (preferiblemente agujeros de una placa de 96 agujeros) a concentraciones en aumento (3 μ l/agujero; concentración de ensayo final de 12 μ M). A estos agujeros, se les agregaron 100,000 células en 50 μ l de Amortiguador de Prueba y la mezcla fue entonces incubada por 30 minutos a temperatura ambiente, con agitación cuidadosa. Seguida la incubación, se agregaron 100 μ l de Amortiguador de Detección a cada agujero, seguido por incubación por 2-24 horas. Las placas fueron contadas en un lector de placa Wallac MicroBeta™ usando "Prot.#31" (según las instrucciones del fabricante).

Ciertos compuestos de la invención tienen un EC_{50} en el método de Célula Entera cAMP de aproximadamente 25 μ M o menos.

Ejemplo 4: Actividad Biológica In vitro

Ensayo de enlace de ^{35} S-GTP γ S:

Las membranas preparadas de células de Ovario de Hámster Chino (CHO)-K1 que expresan establemente el receptor de niacina o control de vector (7 μ g/ensayo) se diluyeron en amortiguador de prueba (HEPES 100 mM, NaCl 100 mM y $MgCl_2$ 10 mM pH 7.4) en placas Wallac Scintistrip y se pre-incubaron con compuestos de prueba diluidos en amortiguador de prueba que contiene GDP 40 μ M ([GDP] final fue 10 μ M) por ~10 minutos antes de la adición de ^{35} S-GTP γ S a 0.3 nM. Para evitar la precipitación de compuesto potencial, todos los compuestos fueron preparados primero en 100% de DMSO y luego se diluyeron con amortiguador de prueba produciendo una concentración final de 3% de DMSO en el ensayo. Se dejó proceder el enlace por una hora antes de centrifugar las placas a 4000 rpm por 15 minutos a temperatura ambiente y posterior conteo en un contador de cintilación TopCount. El análisis de regresión no lineal de las curvas de enlace se realizó en GraphPad Prism.

Preparación de la Membrana

Materiales:

Medio de cultivo de célula CHO-K1: Medio de Cultivo de Célula Modificado F-12 Kaighn con 10% de FBS, L-Glutamina 2 mM, Pivurato de Sodio 1 mM y 400 μ g/ml de G418

Amortiguador de Raspado de Membrana: HEPES 20 mM
EDTA 10 mM, pH 7.4

Amortiguador de Lavado de Membrana: HEPES 20 mM
EDTA 0.1 mM, pH 7.4

Cocktail de Inhibidor de Proteasa: P-8340, (Sigma, St. Louis, MO)

Procedimiento:

- Aspirar el medio de cultivo de célula de las placas de 15 cm² plates, enjuagar con 5 mL de PBS frío y aspirar.
- Agregar 5 mL de Amortiguador de Raspado de Membrana y raspe las células. Transfiera el raspado en tubo centrífuga de 50 mL. Agregar 50 µL de Cocktail de Inhibidor de Proteasa.
- Girar a 20,000 rpm por 17 minutos a 4 °C.
- Aspirar el sobrenadante y resuspender el pélet en 30 mL de Amortiguador de Lavado de Membrana. Agregar 50 µL de Cocktail de Inhibidor de Proteasa.
- Girar a 20,000 rpm por 17 minutos a 4°C.
- Aspirar el sobrenadante del pélet de membrana. El pélet puede ser congelado a -80 °C para uso posterior o se puede usar inmediatamente.

Ensayo

Materiales:

Sal sódica de Guanosin 5'-difosfato (GDP, Sigma-Aldrich Catálogo # 87127)

Guanosin 5'-[γ³⁵S] tiotriofosfato, sal de trietilamonio ([³⁵S]GTPγS, Amersham Biosciences Catálogo #SJ1320, ~1000Ci/mmol)

Scintiplacas de 96 agujeros (Perkin-Elmer #1450-501)

Amortiguador de Enlace: HEPES 20 mM, pH 7.4

NaCl 100 mM

MgCl₂ 10 mM

Amortiguador de GDP: amortiguador de enlace más GDP, que varía de 0.4 a 40 µM, hecho fresco antes del ensayo

Procedimiento:

(volumen de ensayo total = 100 µ/agujero)

25 μL de amortiguador de GDP con o sin compuestos (GDP final 10 μM – uso de patrón 40 μM)

50 μL de membrana en amortiguador de enlace (0.4 mg de proteína/mL)

25 μL de [^{35}S]GTP γS en amortiguador de enlace. Este se hace agregando 5 μL de [^{35}S]GTP γS de patrón en 10 mL de amortiguador de enlace (Este amortiguador no tiene GDP)

- Descongelar las placas de compuesto a ser seleccionadas (placas hijas con 5 μL de compuesto @ 2mM en 100% de DMSO)
- Diluir los compuestos 2 mM 1:50 con 245 μL de amortiguador de GDP hasta 40 μM en 2% de DMSO. Descongelar el pélet de membrana congelado en hielo.
- Homogenizar las membranas brevemente hasta una suspensión usando un POLYTRONPT3100 (sonda PT-DA 3007/2 a ajuste de 7000 rpm). Determinar la concentración de proteína de membrana mediante el ensayo de Bradford. Diluir la membrana hasta concentraciones de proteína de 0.40 mg/ml en Amortiguador de Enlace. (Nota: la concentración de ensayo final es 20 μg /agujero).
- Agregar 25 μL de compuestos en amortiguador de GDP por agujero a la Scintiplaca.
- Agregar 50 μL de membranas por agujero a la Scintiplaca.
- Pre-incubar por 5-10 minutos a temperatura ambiente.
- Agregar 25 μL de [^{35}S]GTP γS diluido. Incubar en un agitador (Lab-Line modelo #1314, agitación ajustada de 4) por 60 minutos a temperatura ambiente.
- El ensayo se detiene agitando las placas selladas con cubiertas de placa a 2500 rpm por 20 minutos a 22 $^{\circ}\text{C}$
- Leer en el contador de Cintilación TopCount NXT – protocolo 35S.

Ciertos compuestos de la invención tienen un EC_{50} en el ensayo de enlace de GTP γS *in Vitro* dentro del rango de aproximadamente 10-100 μM . Los compuestos más ventajosos de la invención tienen un valor de EC_{50} en este ensayo dentro del rango de aproximadamente 1-10 μM . Aún los compuestos más ventajosos tienen un valor de EC_{50} en este ensayo de menos de aproximadamente 1 μM .

Ejemplo 5

Modelo de Animal *In Vivo*

Una utilidad del compuesto de la presente invención como un agente médico en la profilaxis y tratamiento de relación colesterol total alto/HDL-colesterol y condiciones relacionadas a esto, se demuestra por la actividad del compuesto para disminuir la relación total de colesterol a HDL-colesterol, elevar el HDL-colesterol, o proteger de aterosclerosis en un modelo de cerdo *in vivo*. Los cerdos se usan como un modelo de animal porque reflejan la fisiología humana, especialmente el metabolismo de lípido, de una forma más cercana que la mayoría de los otros modelos de animal. Aquí se presenta un modelo de cerdo *in vivo* ilustrativo que no pretende ser limitante.

Cerdos albinos Yorkshire (peso corporal 25.5 ± 4 kg) son alimentados con una dieta rica en ácido graso saturado y rica en colesterol (SFA-CHO) durante 50 días (1 kg de comida 35 kg^{-1} peso de cerdo), compuesto de comida estándar suplementada con 2% de colesterol y 20% de cebo de res [Royo T et al., *European Journal of Clinical Investigation* (2000) 30: 843-52; cuya revelación está incorporada aquí para referencia en su totalidad]. La relación ácido graso saturado a insaturado es modificada de 0.6 en concentrado de cerdo normal a 1.12 en la dieta SFA-CHO. Los animales son divididos en dos grupos, un grupo ($n = 8$) alimentado con la dieta SFA-CHO y tratado con placebo y un grupo ($n = 8$) alimentado con la dieta SFA-CHO y tratado con el compuesto (3.0 mg kg^{-1}). Los animales de control son alimentados con concentrado estándar por un período de 50 días. Las muestras de sangre son recolectadas en la línea de base (2 días después de la recepción de los animales), y 50 días después del inicio de la dieta. Se analizan los lípidos en la sangre. Los animales son sacrificados y se les realiza una necropsia.

Alternativamente, el análisis anterior comprende una pluralidad de grupos cada uno tratado con una dosis diferente del compuesto. Dichas dosis preferidas son seleccionadas del grupo que consiste de: 0.1 mg kg^{-1} , 0.3 mg kg^{-1} , 1.0 mg kg^{-1} , 3.0 mg kg^{-1} , 10 mg kg^{-1} , 30 mg kg^{-1} y 100 mg kg^{-1} . Alternativamente, al análisis anterior se realiza en una pluralidad de puntos

de tiempo. Dichos puntos de tiempo preferidos con seleccionados del grupo que consiste de 10 semanas, 20 semanas, 30 semanas, 40 semanas, y 50 semanas.

HDL-Colesterol

La sangre es recolectada en citrato trisódico (3.8%, 1:10). El plasma es obtenido después de centrifugación (1200 g 15 min) y procesado inmediatamente. El colesterol total, HDL-colesterol, y LDL-colesterol son medidos usando el analizador automático Kodak Ektachem DT System (Eastman Kodak Company, Rochester, NY, USA). Las muestras con parámetros de valor por encima del rango son diluidas con la solución suministrada por el fabricante y luego re-analizadas. Se determina la relación colesterol total/HDL-colesterol. Se hace la comparación del nivel de HDL-colesterol entre grupos. Se hace la comparación de la relación colesterol total/HDL-colesterol entre grupos.

La elevación del HDL-colesterol o la reducción de la relación colesterol total/HDL-colesterol a la administración del compuesto se toma como un indicativo que el compuesto tiene la utilidad mencionada anteriormente.

Aterosclerosis

Las aortas torácica y abdominal son removidas intactas, abiertas longitudinalmente a lo largo de la superficie ventral, y fijadas en formalina amortiguada neutra después de la excisión de muestras de sitios estándar en la aorta torácica y abdominal para examen histológico y composición de lípido y estudios de síntesis. Después de la fijación, las aortas enteras son teñidas con Sudan IV y fijadas planas, y se obtienen imágenes digitales con una cámara de TV conectada a un sistema de análisis de imagen computarizado (Image Pro Plus; Media Cybernetics, Silver Spring, MD) para determinar el porcentaje de superficie aórtica involucrada con lesiones ateroscleróticas [Gerrity RG et al, *Diabetes* (2001) 50:1654- 65; Cornhill JF et al, *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* (1985) 5: 415-26; cuyas revelaciones están incorporadas aquí para referencia en su totalidad]. Se hacen comparaciones entre grupos del porcentaje de superficie aórtica involucrada con lesiones ateroscleróticas.

La reducción en el porcentaje de superficie aórtica involucrada con lesiones ateroscleróticas a la administración del compuesto se toma como un indicativo que el compuesto tiene la utilidad mencionada anteriormente.

Ejemplo 6

Ensayo de Enlace del Receptor

Además de los métodos descritos aquí, otro medio para evaluar un compuesto de prueba es mediante la determinación de afinidades de enlace al receptor RUP25. Este tipo de ensayo requiere generalmente un ligando radiomarcado al receptor RUP25. Ausente el uso de ligandos conocidos para el receptor RUP25 y radioetiquetas del mismo, los compuestos de Formula (I) se pueden marcar con un radioisótopo y usarse en un ensayo para evaluar la afinidad de un compuesto de prueba al receptor RUP25.

Un compuesto de Formula (I) RUP25 radiomarcado se puede usar en un ensayo de selección para identificar/evaluar los compuestos. En términos generales, un compuesto nuevo identificado o sintetizado (i.e., compuesto de prueba) puede ser evaluado para su habilidad para reducir el enlace del "compuesto radiomarcado de Formula (I)" al receptor RUP25. En consecuencia, la habilidad para competir con un "compuesto radio-marcado de Formula (I)" o ligando de RUP25 radiomarcado para el enlace al receptor RUP25 se correlaciona directamente con la afinidad de enlace del compuesto de prueba al receptor RUP25.

PROTOCOLO DE ENSAYO PARA DETERMINAR EL ENLACE A RECEPTOR PARA RUP25:

A. PREPARACION DEL RECEPTOR RUP25

Células 293 (riñón humano, ATCC), transfectadas transitoriamente con 10 ug de receptor RUP25 humano y 60 ul de Lipofectamina (por disco de 15-cm), son cultivadas en el disco por 24 horas (75% de confluencia) con un cambio de medio y removidas con 10ml/disco de amortiguador de Hepes-EDTA (Hepes 20mM + EDTA 10 mM, pH 7.4). Las células son centrifugadas

en una centrífuga Beckman Coulter por 20 minutos, 17,000 rpm (rotor JA-25.50). Posteriormente, el pélet es resuspendido en Hepes 20 mM + EDTA 1 mM, pH 7.4 y homogenizado con un homogenizador 50-ml Dounce y centrifugado de nuevo. Después de remover el sobrenadante, los pélets son almacenados a -80 °C, hasta que se usan en el ensayo de enlace. Cuando se usan en el ensayo, las membranas son descongeladas en hielo por 20 minutos y luego se agregan 10 mL de amortiguador de incubación (Hepes 20 mM, MgCl₂ 1 mM, NaCl 100 mM, pH 7.4). Las membranas son vorticeadas para resuspender el pélet de membrana cruda y homogenizadas con un homogenizador Polytron Brinkmann PT-3100 por 15 segundos a ajuste 6. La concentración de proteína de membrana se determina usando el ensayo de proteína BRL Bradford.

B. ENSAYO DE ENLACE

Para enlace total, se agrega un volumen total de 50 ul de membranas diluidas apropiadamente (diluidas en amortiguador de prueba que contiene Tris HCl 50mM (pH 7.4), MgCl₂ 10 Mm, y EDTA 1 Mm; 5-50 ug de proteína) a placas microtituladoras de polipropileno de 96 agujeros seguido por la adición de 100 ul de amortiguador de prueba y 50ul de Ligando de RUP25 Radiomarcado. Para el enlace no específico, se agregan 50 ul de amortiguador de prueba en lugar de 100 ul y un adicional de 50ul de RUP25 10 M frío antes de agregar 50ul de Ligando de RUP25 Radiomarcado. Las placas son entonces incubadas a temperatura ambiente por 60-120 minutos. La reacción de enlace se termina filtrando las placas de ensayo en una placa de filtración Unifilter Microplate Devices GF/C con un recolector de placa de 96 agujeros Brandell seguido por el lavado con Tris HCl 50 mM, pH 7.4 que contiene 0.9% de NaCl. Luego, el fondo de la placa de filtración es sellado, se agregan 50ul de Supremix Optiphase a cada agujero, la parte superior de las placas es sellada, y las placas son contadas en un contador de cintilación Trilux MicroBeta. Para los estudios de competición del compuesto, el lugar de agregar 100ul de amortiguador de prueba, se agregan 100 ul de compuesto de prueba apropiadamente diluido a los agujeros apropiados seguido por la adición de 50 ul de Ligando de RUP25 Radiomarcado.

C. CALCULOS

Los compuestos de prueba son inicialmente ensayados a 1 y 0.1 μM y luego en un rango de concentraciones elegidas de forma que la dosis media causaría aproximadamente 50% de inhibición de un enlace de Ligando Radio-RUP25 (i.e., IC_{50}). El enlace específico en la ausencia de compuesto de prueba (Bo) es la diferencia del enlace total (BT) menos el enlace no específico (NSB) e igualmente, el enlace específico (en la presencia del compuesto de prueba) (B) es la diferencia de enlace de desplazamiento (BD) menos el enlace no específico (NSB). El IC_{50} se determina a partir de una curva de respuesta de inhibición, gráfica logit-log de % B/Bo vs concentración del compuesto de prueba.

K_i se calcula mediante la transformación de Cheng y Prustoff:

$$\text{K}_i = \text{IC}_{50} / (1 + [\text{L}]/\text{K}_D)$$

en donde $[\text{L}]$ es la concentración de un Ligando de Radio-RUP25 usando en el ensayo y K_D es la constante de disociación de un Ligando Radio-RUP25 determinada independientemente bajo las mismas condiciones de enlace.

D. PROCEDIMIENTO DE ENSAYO DE ENLACE ALTERNATIVO

Ensayo de competición de enlace de ácido ^3H -nicotínico.

Células CHO-K1 que expresan establemente el receptor de niacina se usaron para hacer la membrana para el análisis de enlace. Las células fueron cultivadas a 80% de confluencia en un medio de cultivo (medio modificado de Kaighn F-12 (ATCC, #30-2004) que contiene 10% de FBS (GIBCO, #10438-026), 1 mg/ml G418 (GIBCO, #10131-027) y Pen-Strep 1X (Sigma P-0871), recolectadas por raspado, y centrifugadas a 12 000 X g, 4° Celsius, 10 minutos. Los pélets de célula fueron resuspendidos en amortiguador de recolección (HEPES 20 mM, EDTA 10 mM, pH 7.4) y homogenizados con 4 X 10 explosiones por segundo de un homogenizador

Polytron de 12 mm, ajuste 5. El lisado fue centrifugado a 2 000 X g, 4°, 10 minutos para remover las células y núcleos no lisados, y el sobrenadante resultante fue centrifugado a 39 000 X g, 4°, 45 minutos hasta las membranas de pélet. El pélet resultante fue resuspendido en amortiguador de lavado (HEPES 20 mM, EDTA 0.1 mM, pH 7.4), homogenizado con 3 X 10 explosiones por segundo de un Polytron de 12 mm, ajuste 4, y re-centrifugado a 39 000 X g, 4°, 45 minutos. El pélet resultante fue resuspendido en amortiguador de lavado y almacenado en nitrógeno líquido antes de su uso. La concentración de las proteínas de membrana en esta preparación se determinó usando el ensayo de proteína de Pierce BCA, con BSA como un estándar.

El enlace de equilibrio de ácido ^3H -nicotínico se realizó en placas de polipropileno de 96 agujeros. Las reacciones contenían 140 μl de membrana diluída en amortiguador de prueba (HEPES 20 mM, pH 7.4, MgCl_2 1 mM, y 0.01 % de CHAPS; 15-30 μg de proteína de membrana/ensayo), 20 μl de compuestos de prueba diluidos en amortiguador de prueba (los patrones de compuesto estaban en 100% de DMSO; concentración de DMSO final en la prueba fue de 0.25%), y 40 μl de niacina titulada 250 nM (ácido [5,6- ^3H]-nicotínico: American Radiolabeled Chemicals, Inc., 20 μM en etanol; concentración final de etanol en cada ensayo fue de 1.5%). El enlace no específico se determinó en la presencia de ácido nicotínico no marcado 250 μM . Después de mezclar por 3-4 horas a temperatura ambiente, las reacciones fueron filtradas a través de placas GF/C Packard Unifilter usando un Recolector Packard, y lavadas con 8 X 200 μl de amortiguador de enlace enfriado con hielo. Las placas fueron secadas durante la noche y sus respaldos fueron sellados usando cinta PerkinElmer diseñada para placas GF/C. Se agregaron 40 μl de fluido de cintilación PerkinElmer Microscint-20 a cada agujero, las partes superiores fueron selladas, y las placas analizadas en un contador de cintilación Packard TopCount.

Los cálculos se realizaron como en el punto C anterior.

Ciertos compuestos de la invención tienen un EC_{50} en el ensayo de competición de enlace de ácido ^3H -nicotínico dentro del rango de

aproximadamente 10 a aproximadamente 100 μM . Los compuestos más ventajosos de la invención tienen un valor de EC_{50} en este ensayo entre el rango de aproximadamente 1 a aproximadamente 10 μM . Los compuestos aún más ventajosos tienen un valor de EC_{50} en este ensayo de menos de aproximadamente 1 μM .

Ejemplo 7: Enrojecimiento mediante Doppler por Láser

Procedimiento – ratones machos C57B16 (~25g) son anestesiados usando 10mg/ml/kg de Nembutal sodio. Cuando los antagonistas van a ser administrados, son co-inyectados con la anestesia Nembutal. Después de diez minutos el animal es colocado bajo el láser y la oreja es doblada hacia atrás para exponer el lado ventral. El láser es colocado en el centro de la oreja y enfocado a una intensidad de 8.4-9.0 V (que es generalmente ~4.5cm por encima de la oreja). La adquisición de datos se inicia con un formado de imagen de 15 por 15, intervalo auto, 60 imágenes y un retraso de tiempo de 20 seg con una resolución media. Los compuestos de prueba son administrados después de la 10ª imagen mediante inyección al espacio peritoneal. Las imágenes 1-10 se consideran la línea de base del animal y los datos son normalizados a un promedio de las intensidades medias de la línea de base.

Materiales y Métodos - Laser Doppler Pirimed Piml; Niacina (Sigma); Nembutal (Abbott labs).

Ejemplo 8: Inhibición de Producción de Ácido Graso Libre, *in vivo*, en Ratas Sprague-Daly Macho Cateterizadas

Los ensayos de ácido graso libre no esterificado se realizaron en suero derivado de ratas vivas que se mueven libremente. Los catéteres en la vena yugular fueron implantados quirúrgicamente en las venas yugulares y se dejó que los animales se recuperaran al menos 48hr post cirugía. El alimento fue removido a los animales aproximadamente 16 horas antes del ensayo. Un retiro de ~200 μl de sangre fueron sacados del catéter y representan la muestra de suero NEFA de línea de base. El fármaco fue administrado intra-peritonealmente (IP) a varias concentraciones a ratas

individuales, y luego retiros de ~ 200 μ l de sangre fueron sacados del catéter a los puntos de tiempo indicados para el análisis NEFA adicional. Los ensayos NEFA se realizaron de acuerdo con las especificaciones del fabricante (Wako Chemicals, USA; NEFA C) y las concentraciones de ácido graso libre se determinaron mediante análisis de regresión de una curva estándar conocida (rango de ácidos grasos libres conocidos). Los datos fueron analizados usando Excel y PrismGraph.

Ejemplo 9:

Ahora la invención se ilustrará mediante los siguientes ejemplos no limitantes en los cuales, a menos que se indique de otra forma:

- (i) todas las operaciones se realizaron a temperatura ambiente o del cuarto, esto es, a una temperatura en el rango de 18-25 °C;
- (ii) la evaporación del solvente se realizó usando un evaporador rotatorio bajo presión reducida (4.5-30 mmHg) con una temperatura de baño de hasta 50° C;
- (iii) el curso de las reacciones fue seguido mediante cromatografía de capa delgada (TLC) y/o cromatografía líquida de alto desempeño tándem (HPLC) seguida por espectroscopia de masas (MS), aquí llamada LCMS, y cualquier tiempo de reacción está dado para ilustración únicamente;
- (iv) la estructura de todos los compuestos finales se aseguró mediante al menos una de las siguientes técnicas: espectrometría MS o resonancia magnética nuclear de protón (RMN ^1H), y la pureza se aseguró mediante al menos una de las siguientes técnicas: TLC o HPLC;
- (v) los rendimientos, si se dan, son para ilustración únicamente;
- (vi) Los espectros de RMN ^1H se registraron en ya sea un Bruker Avance-400 o una Unidad Varian o un instrumento Varian Inova a 400 o 500 o 600 MHz usando el solvente indicado; cuando se listan en línea, los datos de RMN están en la forma de valores delta (δ) para protones de diagnóstico

mayores, dados en partes por millón (ppm) con relación a los picos de solvente residuales (multiplicidad y número de hidrógenos); las abreviaturas convencionales usadas para la forma de señal son: s. singlete; d. doblete (aparente); t. triplete (aparente); m. multiplete; br. ancho;

(vii) Los datos de MS se registraron en una unidad Waters Micromass o API 150EX, interconectada con un instrumento HPLC Hewlett-Packard (Agilent 1100) o Shimadzu (LC-IOAD VP), y que opera sobre el software MassLynx/OpenLynx o Analyst 1.2; se usó la ionización de electrospray con detección del ión positivo (ES+) o negativo (ES-); el método para LCMS ES+ fue 1-2 mL/min, gradiente lineal de 10-95% de B durante 5.5 min (B = 0.05% de TFA-acetonitrilo, A = 0.05% de TFA-agua), y el método para LCMS ES- fue 1-2 mL/min, gradiente lineal de 10-95% de B durante 5.5 min (B = 0.1% de ácido fórmico-acetonitrilo, A = 0.1% de ácido fórmico – agua), Waters XTerra C18-3.5 μ m - 50 x 3.0mm ID y detección de arreglo de diodo;

(viii) la purificación de los compuestos mediante HPLC preparativa de fase reversa (RPHPLC) se condujo en una Waters Symmetry Prep C18-5 μ m - 30 x 100 mmID, o una Waters Atlantis Prep dC18 - 5 μ m – 20 x 100 mmID; 20mL/min, gradiente lineal de 10-100% de B durante 15 min (B = 0.05% de TFA-acetonitrilo, A = 0.05% de TFA - agua), y detección de arreglo de diodo;

(ix) La purificación automatizada de los compuestos mediante HPLC preparativa de fase reversa se realizó en un sistema Gilson usando una columna YMC-Pack Pro C18 (150 x 20 mm i.d.) eluyendo a 20 mL/min con 0-50% de acetonitrilo en agua (0.1 % de TFA);

(x) la purificación de los compuestos mediante cromatografía preparativa de capa delgada (PTLC) se condujo en placas prep de vidrio de 20 x 20 cm recubiertas con gel de sílice, o cromatografía centrífuga en un cromatotrón usando rotores de vidrio recubiertos con gel de sílice, ambos disponibles comercialmente en Analtech;

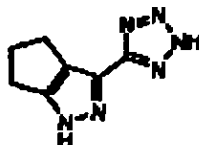
(xi) la cromatografía de columna se realizó en una columna de gel de sílice usando Kieselgel 60, 0.063-0.200 mm (Merck).

(xii) las irradiaciones de microondas se realizaron usando el Sintetizador Smith (Personal Chemistry).

(xiii) los símbolos químicos tienen sus significados usuales; también se han usado las siguientes abreviaturas v (volumen), p (peso), p.e. (punto de ebullición), p.f. (punto de fusión), L (litro(s)), mL (mililitros), g (gramo(s)), mg (miligramos (s)), mol(moles), mmol (milimoles), eq o equiv (equivalente(s)), IC₅₀ (concentración molar que produce el 50% de inhibición máxima posible), EC₅₀ (concentración molar que produce el 50% de la eficacia o respuesta máxima posible), μ M (micromolar), nM (nanomolar).

Se proveen los siguientes ejemplos de forma que la invención pueda ser entendida más completamente.

**Ejemplo 9.1:3-(2H-tetrazol-5-il)-1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol
(Compuesto 1).**



Método A: Preparación del Compuesto 1.

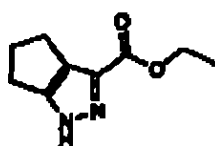
Se recuperaron 1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-carbonitrilo (0.022 g, 0.165 mmol) y azida de sodio (0.086 g, 1.30 mmol) en DMF (3 cm³) calentado bajo irradiación de microondas hasta 175 °C por 20 minutos. La solución fue enfriada hasta temperatura ambiente, filtrada, y el sólido filtrado fue lavado con acetato de etilo. Las soluciones combinadas se agregaron a bicarbonato de sodio acuoso saturado (20 cm³) y se lavaron con acetato de etilo. La capa acuosa fue acidificada hasta pH 1 con la adición de ácido clorhídrico 1 M y se extrajo en acetato de etilo. Los lavados de acetato de etilo fueron combinados y el solvente fue removido bajo presión reducida, el sólido resultante fue purificado mediante HPLC preparativa para dar 3-(2H-tetrazol-5-il)-1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol como un sólido blanco (0.012 g, 0.068 mmol, 41%). RMN ¹H δ (CD₃OD): 2.88 (tipo t, 2H, J=7.0),

421

2.82 (tipo t, 2H, J=7.3), 2.64 (tipo quinteto, 2H, J=7.1); m/z (ES⁺): 177 [M+H]⁺.

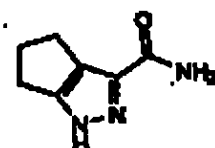
El intermediario 1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-carbonitrilo se prepare usando el siguiente procedimiento.

Paso A: Etil éster del ácido 1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico



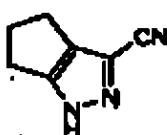
Se recuperó ciclopentanona (10.0 g, 118.9 mmol) en etanol absoluto (30 cm³) y se agregó etóxido de sodio (53 cm³, 21% en etanol, 143 mmol). La solución resultante se agitó bajo argón por 10 minutos, luego se adicionó oxalato de dietilo (19.1 g, 131 mmol). Se agregó etanol adicional (10 cm³) y la solución se calentó a 75 °C por 3 horas y se enfrió hasta temperatura ambiente. Clorhidrato de hidrazina (8.15 g, 119 mmol) recuperado en agua (20cm³) se agregó y la solución se calentó hasta 75 °C durante la noche. El solvente fue removido bajo presión reducida y el resultante se recuperó en acetato de etilo (200 cm³) y se lavó con agua (200 cm³), se secó (Na₂SO₄), se filtró y el solvente fue removido bajo presión reducida para dar etil éster del ácido 1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico como un sólido blanco opaco (16.16 g, 90.0 mmol, 76%). δ_H (CD₃OD): 4.34 (q, 2H, J=7.1, OCH₂CH₃), 2.78 (tipo t, 2H, J=7.0), 2.72 (br s, 2H), 2.49 (br s, 2H), 1.36 (t, 3H, J=7.1, OCH₂CH₃). m/z (ES⁺): 181 [M+H]⁺.

Paso B: Amida del ácido 1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico.



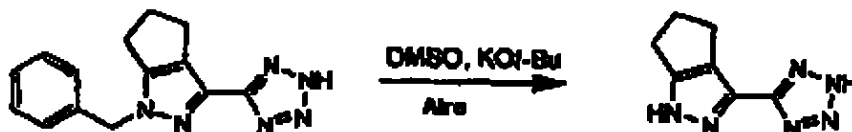
El etil éster del ácido 1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico (0.808 g, 4.48 mmol) se recuperó en amoníaco metanólico (ca 7 M, 12 cm³) y se agitó durante la noche a 95 °C. La solución resultante fue enfriada y la amida del ácido 1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico precipitada fue recolectada mediante filtración al vacío como un sólido cristalino blanco (0.438 g, 2.90 mmol, 65%). δ_H (CD₃OD): 2.79 (tipo t, 2H, J=6.9), 2.73 (tipo t, 2H, J=7.3), 2.55 (br s, 2H); m/z (ES⁺): 152[M+H]⁺.

Paso C: 1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-carbonitrilo.



Se agregó la amida del ácido 1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico (0.210 g, 1.39 mmol) a acetonitrilo anhidro (12 cm³), se calentó hasta 80 °C y se agregó cloruro de sodio (2.0 g, 34 mmol). Después de 15 minutos se adicionó oxiclورو de fósforo (0.128 g, 0.83 mmol) y la solución se calentó hasta 80 °C durante la noche, se enfrió, filtró, y el sólido fue lavado con acetonitrilo. El solvente fue removido de las soluciones combinadas bajo presión reducida y el sólido resultante fue purificado mediante HPLC preparativa para dar 1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-carbonitrilo como un sólido color púrpura profundo (0.031 g, 0.23 mmol, 17%). δ_H (CD₃OD): 2.79 (tipo t, 2H, J=7.3), 2.73 (tipo t, 2H, J=7.1), 2.65-2.55 (m, 2H); m/z (ES⁺): 134 [M+H]⁺.

Método B: Preparation del Compuesto 1.

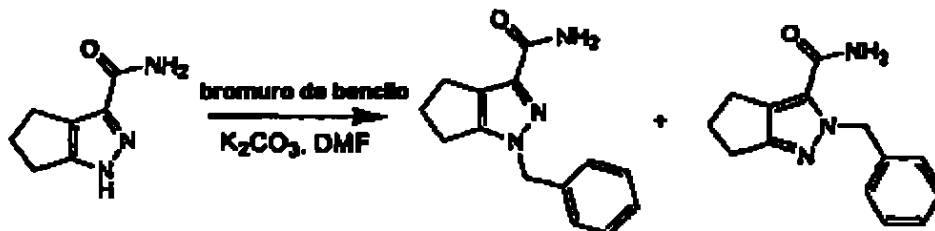


Se burbujeó aire a través de una solución en agitación de 1-bencil-3-(2H-tetrazol-5-il)-1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol (1.92 g, 7.21 mmol) y KOt-

423

Bu (65 mL de una solución 1 M en THF) en DMSO (50 mL) por un período de 2.0 h. La reacción fue acidificada hasta pH = 2 mediante la adición de HCl (3M ac). La mezcla fue filtrada y el filtrado fue cocentrado al vacío para remover los volátiles. El material fue purificado mediante HPLC de fase reversa: columna C18 Phenomenex® Luna (10 μ , 250 x 50mm), gradiente de 5% (v/v) de CH₃CN (que contiene TFA al 1% v/v) en H₂O (que contiene TFA al 1% v/v) hasta 50% de H₂O, 60 ml/min, λ = 214 nm. El producto fue purificado adicionalmente mediante la carga del material en un cartucho Varian BondElut® 60mL, 109 SCX. Se pasó MeOH (150 mL) a través de la columna para remover las impurezas no enlazadas. El producto fue entonces eluido pasando una solución de NH₃ 2N en MeOH (150 mL) a través de la columna. La concentración del eluyente produjo la sal de amonio del Compuesto 1 (947 mg, 5.38 mmol, rendimiento del 75%) como un sólido blanco. RMN ¹H (sal de amonio, 400MHz, CD₃OD): δ 2.88 (2H, t, J= 6.8 Hz), 2.74 (2H, t, J= 6.8 Hz), 2.52 (2H, quin, J = 6.8 Hz). HPLC/MS: columna C18 Discovery® (5 μ , 50 x 2.1 mm), gradiente de 5% v/v de CH₃CN (que contiene TFA al 1% v/v) en H₂O (que contiene TFA al 1% v/v) hasta 99% v/v de CH₃CN en H₂O, 0.75mL/min, t_r = 1.22 min, ESI+ = 177.3 (M+H). Anal Calc. para C₇H₈N₆ (compuesto neutro): C, 47.72; H, 4.58. Encontrado: C, 47.27; H, 4.16. Anal Calc para C₇H₁₁N₇ (sal de amonio): C, 43.51; H, 5.74. Encontrado: C, 42.94; H, 5.30. El intermediario 1-bencil-3-(2H-tetrazol-5-il)-1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol se prepare usando el siguiente procedimiento.

Paso A: Preparación de amida del ácido 1-bencil-1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico y amida del ácido 2-bencil-2,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico.



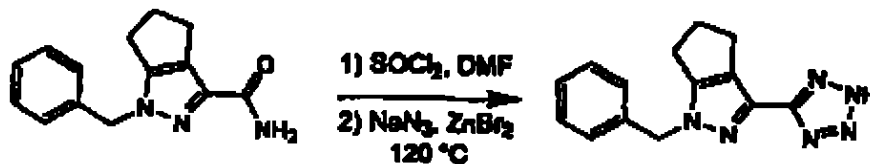
A una solución en agitación de amida del ácido 1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico (2.57 g, 17.0 mmol) en DMF (34 mL) a 25 °C

se le agregó K_2CO_3 (5.87 g, 42.5 mmol) seguido por bromuro de bencilo (4.36g g, 25.5 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente por 16 h tiempo al cual la mezcla se diluyó con EtOAc (75 mL) y se filtró. El filtrado fue lavado con H_2O (100 mL) y la fase acuosa se retro-extrajo con EtOAc (75mL) y CH_2Cl_2 (75 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre $MgSO_4$, filtraron, y concentraron al vacío. La purificación mediante cromatografía de gel de sílice (gradiente de 50% de EtOAc en hexanos hasta 95% de EtOAc en hexanos) produjo amida del ácido 2-bencil-2,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico (739 mg, 3.07 mmol, 18% de rendimiento) aislada como un sólido blanco seguida por la amida del ácido 1-bencil-1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico (3.24 g, 13.4 mmol, 79% de rendimiento) aislada como un sólido blanco.

Amida del ácido 1-bencil-1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico. RMN ^1H (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7.37-7.30 (3H, m), 7.19 (2H, m), 6.67 (1H, bs), 5.34 (1H, bs), 5.19 (2H, s), 2.82 (2H, m), 2.51 (4H, m). RMN APT ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$): δ superior: 164.8, 155.2, 139.0, 136.0, 129.5, 55.3, 31.2, 24.1; inferior: 129.0, 128.3, 127.8. HPLC/MS: Columna C18 Alléche® Prevail (5 μ , 50 x 4.6 mm), gradiente del 5% v/v de CH_3CN (que contiene de TFA al 1% v/v) en H_2O (que contiene TFA al 1% v/v) a 99% v/v de CH_3CN en H_2O , 3.5 mL/min, t_r = 2.13 min, ESI^+ = 242.2 (M + H).

Amida del ácido 2-bencil-2,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico. RMN ^1H (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7.34-7.21 (5H, m), 5.76 (2H, s), 5.70-5.38 (2H, bs), 2.78 (4H, m), 2.49 (2H, m). RMN APT ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$): δ superior: 161.9, 160.1, 138.3, 128.3, 127.1, 55.1, 29.9, 24.8, 24.7; inferior: 128.6, 128.0, 127.6. HPLC/MS: Columna C18 Alltech® Prevail (5 μ , 50 x 4.6 mm), gradiente de 5% v/v de CH_3CN (que contiene TFA al 1% v/v) en H_2O (que contiene TFA al 1% v/v) a 99% v/v de CH_3CN en H_2O , 3.5 mL/min, t_r = 1.98 min, ESI^+ = 242.1 (M + H).

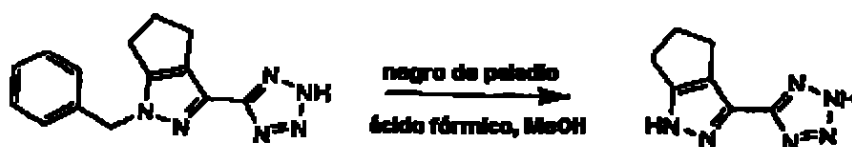
Paso B: Preparación de 1-bencil-3-(2H-tetrazol-5-Il)-1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol



A una solución de amida del ácido 1-bencil-1,4,5,6-tetrahydro-ciclopentapirazol-3-carboxílico (3.02 g, 12.53 mmol) en DMF (25 mL) a la se le agregó cloruro de tionilo (1.94 g, 16.3 mmol). La reacción se agitó por 18 h tiempo al cual se agregó NaHCO_3 (sat. ac., 6 mL) para extinguir el exceso de cloruro de tionilo. La mezcla se diluyó con EtOAc (150 mL) y se lavó secuencialmente con NaHCO_3 (sat. ac., 100 mL) y salmuera (100 mL). Los lavados acuosos fueron retro-extraídos con EtOAc (2 x 100 mL) y los orgánicos combinados fueron secados sobre MgSO_4 , filtrados, y concentrados al vacío para dar un aceite amarillo crudo.

El concentrado se disolvió en DMF (20 mL) y se colocó en un recipiente de reacción sellado de pared pesada, tiempo en el cual se agregaron secuencialmente ZnBr_2 (4.70 g, 18.0 mmol) y NaN_3 (2.73 g, 42.0 mmol). El recipiente fue sellado y calentado hasta 120°C por 18 h. La mezcla fue enfriada hasta la y se agregó HCl (3M ac., 2 mL) y se continuó la agitación por 5 min. La mezcla se diluyó con EtOAc (150 mL) y se lavó con HCl (1M, ac., 100 mL). Los orgánicos fueron secados sobre MgSO_4 , filtrados, y concentrados. La purificación mediante cromatografía de gel de sílice (gradiente de hexanos:EtOAc:AcOH 50:50:0.2 a EtOAc:AcOH 100:0.2) produjo 1-bencil-3-(2H-tetrazol-5-yl)-1,4,5,6-tetrahydro-ciclopentapirazol (2.06 g, 7.74 mmol, 62% de rendimiento) como un sólido blanco. RMN ^1H NMR (400MHz, CD_3OD): δ 7.36-7.25 (5H, m), 5.30 (2H, s), 2.84 (2H, t, $J = 6.4$ Hz), 2.62-2.56 (4H, m). RMN ^{13}C (100MHz, CD_3OD): δ superior: 153.8, 151.9, 137.6, 131.5, 128.9, 55.8, 31.9, 24.8, 24.6; inferior: 129.9, 129.1, 129.0. HPLC/MS: columna C18 Discovery® (5 μ , 50 x 2.1 mm), gradiente de 5% v/v de CH_3CN (que contiene TFA al 1% v/v) en H_2O (que contiene TFA al 1% v/v) a 99% v/v de CH_3CN en H_2O , 0.75 mL/min, $t_r = 2.18$ min, $\text{ESI}^+ = 267.1$ (M + H).

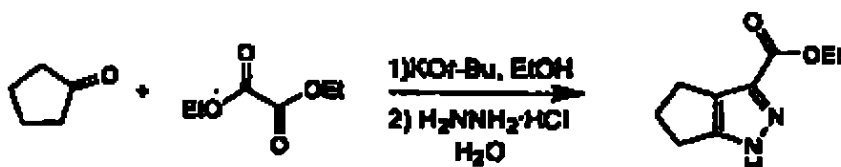
Método C: Preparación del Compuesto 1.



A una solución de 1-bencil-3-(2H-tetrazol-5-il)-1,4,5,6-tetrahidrociclopentapirazol (59.4 g, 223 mmol) en 10% de ácido fórmico/MeOH (vol/vol, 900 mL) se le agregó negro de paladio (39.8g, 374mmol). La mezcla se agitó mecánicamente bajo atmósfera de N₂ por 24 h. La reacción fue filtrada y concentrada. El producto fue purificado adicionalmente y convertido a la sal de amonio por la carga del material (como una solución en MeOH) en una columna que contiene resina Bondesil SCX SPE (750 g). La columna fue limpiada con MeOH (2.0 L) para remover las impurezas no enlazadas. El producto fue eluido usando NH₃ 2N/MeOH (aprox. 1.5 L). A la concentración se obtuvo de la sal de amonio del tetrazol (39.3 g, 203 mmol, 91 % de rendimiento) como un sólido blanco.

El intermediario 1-bencil-3-(2H-tetrazol-5-il)-1,4,5,6-tetrahidrociclopentapirazol se preparó usando el siguiente procedimiento.

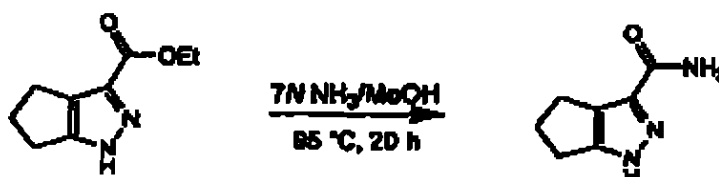
Paso A: Preparación de etil éster del ácido 1,4,5,6-tetrahidrociclopentapirazol-3-carboxílico.



A una solución de ciclopentanona (42.0 g, 0.50 mol) y oxalato de dietilo (73.1 g, 0.50 mol) en EtOH (2.5 L) a ta bajo N₂ se agregó a una solución de KOt-Bu en THF (500mL de una solución 1M, 0.50 mol) durante 0.5 h mediante un embudo de adición. La reacción se agitó por 3.5 h tiempo al cual el frasco fue enfriado hasta 0 °C. Se agregó clorhidrato de hidrazina (37.6 g, 0.55 mol) en H₂O (250 mL) mediante embudo de adición durante 0.5 h. La La reacción fue tibiada hasta ta y se agitó por 16 h. Los volátiles fueron removidos al vacío y el sólido resultante se lavó con NaHCO₃ (ac. sat., 500 mL) y H₂O

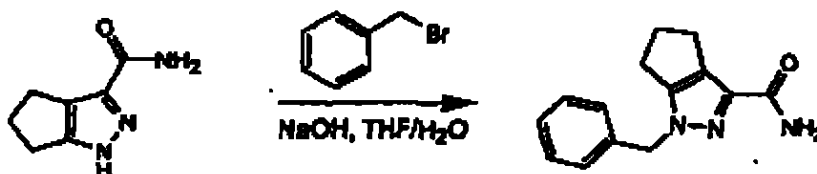
(500 mL). La concentración adicional al vacío produjo el etil éster del ácido 1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico puro (63.6 g, 0.35 mol, 71 % de rendimiento) como un sólido amarillo.

Paso B: Preparación de amida del ácido 1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico.



El etil éster del ácido 1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico (63.5 g, 0.35 mmol) se disolvió en una solución de NH₃ 7N/MeOH (1.0 L). La solución se dividió en cuatro porciones iguales cada una de las cuales fue transferida a recipiente de reacción sellado de pared pesada de 350 mL. Los recipientes fueron calentados hasta 95 °C y se agitaron por 20 h. La reacciones fueron enfriadas hasta ta, tiempo al cual un sólido se precipitó. La solución fue filtrada y el sólido fue lavado con NaOH (1N ac., 200 mL) produciendo la amida del ácido 1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico puro (42.0 g, 0.20 mol, 80% de rendimiento) como un sólido blanco.

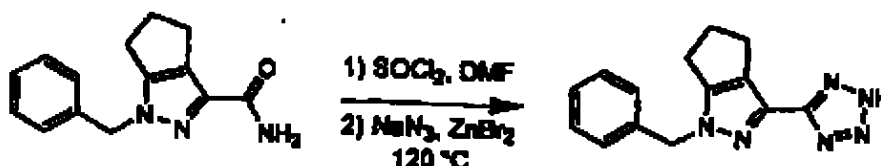
Paso C: Preparación de amida del ácido 1-bencil-1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico y amida del ácido 2-bencil-1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico.



A una solución de la amida del ácido 1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico (41.5 g, 275 mmol) en THF (460 mL) a ta se le agregó una solución de NaOH (5N ac., 110 mL, 0.54 mol). Después de agitación por 5 min, se agregó bromuro de bencilo (49.2 g, 0.29 mol) y la reacción se agitó

por 16 h. Los volátiles se removieron *in vacuo* y el sólido resultante se lavó con H₂O (3 x 250 mL). La concentración adicional produjo los regioisómeros de la amida del ácido 1-bencil-1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico y la amida del ácido 2-bencil-1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico (65.3 g, 270 mmol, 98% de rendimiento) como una mezcla 20:1 y se usó sin separación).

Paso D: Preparación de 1-bencil-3-(2H-tetrazol-5-yl)-1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol

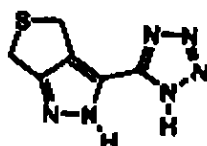


Un frasco equipado con un tubo de secado bajo atmósfera de N₂ fue cargado con DMF anhidra (250 mL). El frasco fue enfriado hasta 0 °C y se agregó cloruro de tionilo (36.7 g, 309 mmol) mediante una jeringa durante un período de 5 min. Después de agitación por un adicional de 10 min, se agregó una solución de amida del ácido 1-bencil-1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico (67.7 g, 281 mmol) en DMF (310 mL) durante 5 min usando un embudo de adición. La mezcla se tibió lentamente hasta ta y se agitó por 16 hr. Se adicionó NaHCO₃ (ac. sat., 100 mL) y la mezcla se agitó por 10 min. Los volátiles fueron removidos *al vacío* y el residuo se diluyó con EtOAc (700 mL) y NaHCO₃ (ac. sat., 700 mL). Las capas fueron separadas y la fase acuosa fue retro-extraída con EtOAc (400 mL). Los orgánicos combinados fueron lavados con NaHCO₃ (sat. ac., 600 mL) y salmuera (600 mL), secados sobre MgSO₄, filtrados, y concentrados para dar 63.1 g del nitrilo como un sólido café.

A una solución del nitrilo (anterior) en DMF (560 mL) se le agregó ZnBr₂ (95.6 g, 425 mmol) seguido por NaN₃ (55.2 g, 849mmol). La mezcla se calentó hasta 120 °C y se agitó por 14 h. La reacción fue enfriada hasta ta y el DMF fue removido *al vacío*. Se agregó HCl (2N ac., 800 mL) y la mezcla se agitó por 15 min seguida por filtración. El sólido se agregó a una mezcla bifásica de EtOAc (500 mL) y HCl (5N ac., 300 mL) y se agitó por 0.5 h. La solución se filtró y las capas se separaron. El sólido remanente se trató de

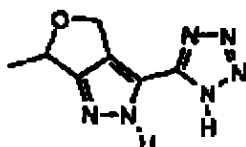
nuevo con EtOAc y HCl (5N ac.) como se describió anteriormente y este proceso (agitar, filtrar, separar) se repitió hasta que todo el material sólido se disolvió. Los filtrados orgánicos combinados fueron concentrados para dar 1-bencil-3-(2H-tetrazol-5-yl)-1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol (61.0 g, 229 mmol, 81% de rendimiento a partir de la amida) como un sólido café claro.

Ejemplo 9.2:3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,6-dihidro-4H-tieno[3,4-c]pirazol (Compuesto 2).



El compuesto 2 se preparó de una manera similar a la descrita en el Ejemplo 9.1, y se caracterizó mediante RMN y MS; RMN ^1H (400MHz, MeOD): (400 MHz, CD_3OD) δ 4.11 (dd, $J = 4.0, 2.2$ Hz, 2 H), 4.03 (dd, $J = 3.6, 2.2$ Hz, 2 H). HPLC/MS: columna Waters® YMC ODS-A (5 μ , 50 x 4.6 mm), gradiente de 5% v/v de CH_3CN (que contiene TFA al 1% v/v) en H_2O (que contiene TFA al 1% v/v) hasta 99% v/v de CH_3CN en H_2O , 3.5 mL/min, $t_r = 1.27$ min, $\text{ESI}^+ = 194$ (M + H).

Ejemplo 9.3:6-metil-3-H-tetrazol-5-yl)-2,6-dihidro-4H-furo[3,4-c]pirazol (Compuesto 3).

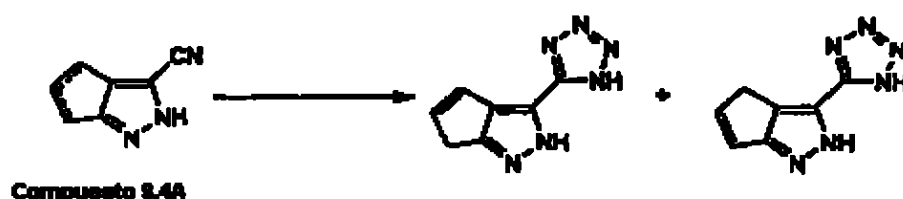


El Compuesto 3 se preparó de una manera similar a la descrita en el Ejemplo 9.1, se realizó una separación mediante cromatografía de columna de los regioisómeros después de la formación del pirazol.

El Compuesto 3 fue caracterizado mediante RMN y MS; RMN ^1H (400MHz, DMSO) δ 5.20 (m, 11H), 4.94 (dd, $J = 34.7, 10.3$ Hz, 2 H), 1.39 (d, $J = 4.4$ Hz, 3H). HPLC/MS: columna Alltech® Prevail C18 (5 μ , 50 x 4.6 mm), gradiente de 5% v/v de CH_3CN (que contiene TFA al 1 % v/v) en H_2O (que

contiene TFA al 1% v/v) a 99% v/v de CH₃CN en H₂O, 3.5 mL/min, t_r = 1.03 min, ESI+ = 192 (M + H).

Ejemplo 9.4:3-(1H-tetrazol-5-yl)-1,4-dihidro-ciclopentapirazol
(Compuesto 4) y **3-(1H-tetrazol-5-yl)-1,6-dihidro-ciclopentapirazol**
(Compuesto 5).



Una solución del Compuesto 9.4A, como una mezcla isomérica, (50 mg, 0.38mmol), azida de sodio (86.5 mg, 133 mmol) y bromuro de zinc (300 mg, 133 mmol) en DMF (2 mL) se irradió bajo microondas a 200 °C por 6 horas. Después de enfriamiento hasta temperatura ambiente, la mezcla de reacción se trató con solución de HCl 2N, se extrajo con EtOAc, lavó con H₂O y se concentró al vacío. La separación de HPLC (columna C18, 5 a 99 % de CH₃CN en H₂O) produjo 40.3 mg (61 %) del producto deseado como una mezcla 2:1 de isómeros olefinicos. LC-MS m/z 175 (M+1); RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 6.94 (m, 0.5H), 6.87 (m, 1 H), 6.76 (m, 1H), 6.40 (m, 0.5H), 3.35 (m, 3H).

Los isómeros fueron separados mediante HPLC de fase reversa: Columna Phenomenex® Luna C18 (10 μ , 250 x 21.2 mm), gradiente de 5% (v/v) de CH₃CN (que contiene TFA al 1% v/v) en H₂O (que contiene TFA al 1% v/v) a 70% H₂O, 20 mL/min, λ = 280 nm.

Alternativamente, los isómeros fueron separados mediante HPLC de fase normal: Columna Dynamax Micorsorb Si (prep) (8 μ , 250 x 10mm), gradiente de 80% (v/v) de EtOAc (que contiene 2% v/v de AcOH) en hexanos (que contiene 2% v/v de AcOH) a 99% de EtOAc, 7.5 mL/min, λ = 280 nm.

El orden de elución de isómero es el mismo para las columnas de fase normal y fase reversa.

Isómero 1 (Isómero de Rf Alto):

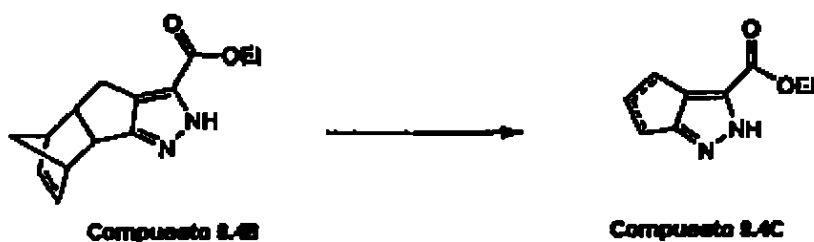
RMN ^1H (400MHz, MeOD): δ 6.79 (2H, m), 3.42 (2H, m). HPLC/MS: columna Discovery® C18 (5 μ , 50 x 2.1 mm), gradiente de 5% v/v de CH₃CN (que contiene 1% v/v de TFA) en H₂O (que contiene 1% v/v de TFA) a 99% v/v de CH₃CN en H₂O, 0.75 mL/min, t_r = 1.10 min, ESI+ = 174.9 (M + H).

Isómero 2 (Isómero de Rf Bajo):

RMN ^1H (400MHz, MeOD): δ 6.98 (1H, m), 6.44 (1H, m), 3.33 (2H, m). HPLC/MS: columna Discovery® C18 (5 μ , 50 x 2.1 mm), 5% v/v de CH₃CN (que contiene 1% v/v de TFA) en H₂O (que contiene 1% v/v de TFA) a 99% v/v de CH₃CN en H₂O, 0.75 mL/min, t_r = 1.11 min, ESI+ = 175.1 (M+H).

El Compuesto 9.4A intermediario, como una mezcla isomérica, se preparó usando los siguientes pasos:

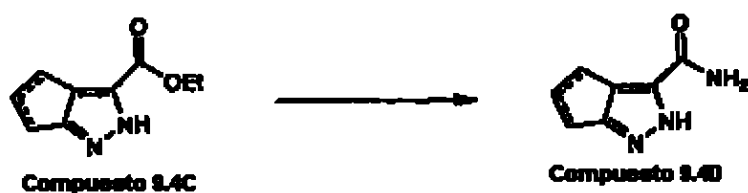
Paso A: Preparación de etil éster del ácido 2,6-dihidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico y etil éster del ácido 2,4-dihidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico (mezcla).



El Compuesto 9.4B se preparó a partir de la cetona correspondiente usando un método similar al descrito aquí para la preparación de ésteres de pirazol (ver Ejemplo 14.2). Una solución del Compuesto 9.4B (2.0 g, 8.19 mmol) en fenil éter (25 mL) se calentó a reflujo (250-260 °C) bajo nitrógeno por 2 horas.

Después de enfriamiento de la solución hasta temperatura ambiente, se cargó en una columna de SiO₂, lavada con DCM para expulsar el fenil éter, y se eluyó con EtOAc/Hex (1/3) para dar 1.05 g (72%) del Compuesto 9.4C como una mezcla de isómeros olefinicos. LC-MS *m/z* 179 (M+1).

Paso B: Preparación de amida del ácido 2,6-dihidrociclopentapirazol-3-carboxílico y amida del ácido 2,4-dihidrociclopentapirazol-3-carboxílico (mezcla).



El Compuesto 9.4C, como una mezcla isomérica, (1.0 g, 5.61 mmol) se disolvió en la cantidad mínima de dioxano (< 5 mL) y se mezcló con solución al 28 % de hidróxido de amonio (100 mL) en un contenedor sellado hermético. La solución se agitó a temperatura ambiente por 24 horas y se concentró al vacío para dar el Compuesto 9.4D, como una mezcla isomérica, como un sólido en rendimiento cuantitativo. LC-MS *m/z* 150 (M+1).

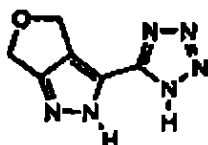
Paso C: Preparación de 2,6-dihidro-ciclopentapirazol-3-carbonitrilo y 2,4-dihidro-ciclopentapirazol-3-carbonitrilo (mezcla).



A una suspensión del Compuesto 9.4D, como una mezcla de isómero, (0.80 g, 5.36 mmol) y carbonato de potasio (0.445 g, 3.22 mmol) en acetonitrilo (30 mL) se le agregó POCl_3 (0.785 mL, 8.58 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se calentó a reflujo por 2 horas. Después de la

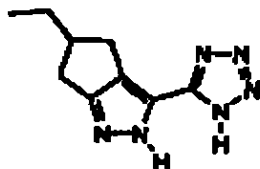
concentración al vacío, el residuo se diluyó con EtOAc (150 mL), se lavó con H₂O y salmuera, se secó (Na₂SO₄), y se concentró para dar 141 mg (20 %) del Compuesto 9.4A como una mezcla de isómero. LC-MS *m/z* 132 (M+1).

**Ejemplo 9.5:3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,6-dihidro-4H-furo[3,4-c]pirazol
(Compuesto 6).**



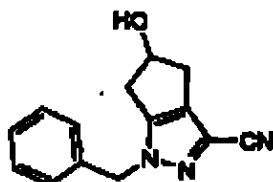
El Compuesto 6 se preparó de una forma similar a la descrita en el Ejemplo 9.1, y fue caracterizado mediante RMN y MS; LC-MS *m/z* 179 (M+1); RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD) δ 5.07 (t, *J* = 2.2 Hz, 2H), 4.92 (t, *J* = 2.2 Hz, 2H).

**Ejemplo 9.6:5-etil-3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol
(Compuesto 7).**



El Compuesto 7 se preparó de una forma similar a la descrita en el Ejemplo 9.1, y fue caracterizado mediante RMN y MS; RMN ¹H (MeOD, 400 MHz): δ 3.07 (1H, dd, *J* = 14.8, 7.6 Hz), 2.94-2.82 (2H, m), 2.51 (1H, dd, *J* = 15.2, 6.8 Hz), 2.41 (1H, dd, *J* = 13.6, 5.6 Hz), 1.6 (2H, m), 1.02 (3H, t, *J* = 7.2 Hz). HPLC/MS: Columna Discovery® C18 (5 μ, 50 x 2.1 mm), gradiente de 5% v/v de CH₃CN (que contiene 1% v/v de TFA) en H₂O (que contiene 1% v/v de TFA) a 99% v/v de CH₃CN en H₂O, 0.75 mL/min, *t_r* = 1.42 min, ESI+ = 205.2 (M+H).

Ejemplo 9.7: Preparación del Intermediario 1-bencil-5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidrociclo-penta[c]pirazol-3-carbonitrilo.

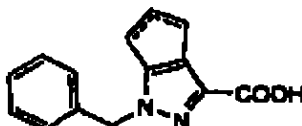


Paso A: Preparación de etil éster del ácido 1-bencil-1,6-dihidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico y etil éster del ácido 1-bencil-1,4-dihidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico (mezcla).



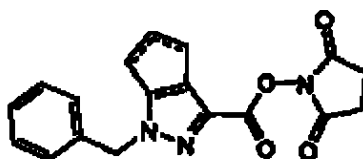
A una solución del pirazol (Compuesto 9.4C, ver Ejemplo 9.4, Paso A, 2.0 g, 11.22 mmol) en THF anhidro (100 mL) se le agregó bromuro de bencilo (5.36 mmol, 44.88 mmol) y NaOH (1.79 g, 44.88 mmol). Después de agitación a temperatura ambiente por 1 hora, la reacción fue extinguida con HCl 1N (100mL). La mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo, se lavó con HCl 1N, solución saturada de NaHCO₃, salmuera y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. La solución fue filtrada y concentrada al vacío. Este material fue purificado en la columna flash biotage 40M (SiO₂) usando 30% de acetato de etilo-hexanos. Se obtuvo un aceite incolor. LC-MS: 3.22 min; (M+Na)=291.1.

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



A una solución del intermediario del paso A (3.55 g, 13.23 mmol) en THF/MeOH 1:1 (40 mL) se le agregó solución de NaOH (5N, 3.9 mL, 20 mmol). Después de 3 horas a temperatura ambiente, la reacción fue extinguida mediante la adición de HCl 1N (22 mL). La capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (3X) y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y concentró al vacío. Se obtuvo un sólido Amarillo que se usó en el siguiente paso sin ninguna purificación adicional. LC-MS: 2.62 min; (M+H) =241.1.

Paso C: Preparación de 2,5-dioxo-pirrolidin-1-il éster del ácido 1-bencil-1,6-dihidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico y 2,5-dioxo-pirrolidin-1-il éster del ácido 1-bencil-1,4-dihidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico (mezcla).



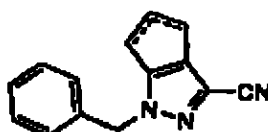
A una solución del intermediario del paso B (3.17 g, 13.23 mmol) en CH₂Cl₂ (200 mL) se le agregó N-hidroxi succinimida (3.04 g, 26.46 mmol) seguida por EDC (5.07 g, 26.46mmol). Después de agitación de la mezcla de reacción a temperatura ambiente por 18 horas, se concentró al vacío. El residuo se diluyó con acetato de etilo (200 mL), se lavó con solución saturada de NaHCO₃ y salmuera. La capa orgánica fue secada sobre Na₂SO₄ anhidro, filtrada y concentrada al vacío. Se obtuvo un sólido amarillo. LC-MS: 2.99 min; (M+H) =338.1.

Paso D: Preparación de amida del ácido 1-bencil-1,6-dihidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico y amida del ácido 1-bencil-1,4-dihidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico (mezcla).



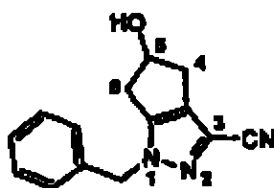
A una solución del intermediario del paso C (4.45 g, 13.22 mmol) en 1,4-dioxano (150 mL) se le agregó NH_4OH (14.8 N, 10.0 eq, 9.1 mL). Se formó un precipitado inmediatamente. Después de agitación a temperatura ambiente por 15 minutos, la mezcla de reacción fue filtrada a través de un embudo sinterizado y el precipitado fue lavado con 1,4-dioxano. El filtrado fue concentrado al vacío para dar un sólido amarillo. LC-MS: 2.55 min; $(\text{M}+\text{H}) = 240.1$.

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



A una solución del intermediario del paso D en DMF anhidro (50 mL) se le agregó cloruro cianúrico (2.33 g, 13.2 mmol). Después de agitación a temperatura ambiente por 15 minutos, la reacción fue extinguida vertiéndola en agua (100 mL). La mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo, se lavó con NaHCO_3 saturado, salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y concentró al vacío. El residuo fue purificado en la columna flash biotage 40 M (SiO_2) usando 20 % de acetato de etilo-hexanos. Se obtuvo un sólido blanco. LC-MS: 3.22 min; $(\text{M}+\text{H}) = 222.2$.

Paso F: Preparación de 1-bencil-5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-carbonitrilo.



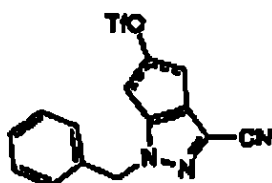
A una solución del intermediario del paso E (0.95 g, 4.29 mmol) en THF anhidro (40 mL) enfriado hasta 0 °C bajo una atmósfera de N_2 se le agregó Borano-THF (23 mmol, 5.36 eq, solución 1.0 M). La reacción fue calentada

hasta temperatura ambiente y se agitó por 1 hora. La reacción fue entonces enfriada hasta 0 °C. Se agregó agua (3 mL) seguido por NaOH (4.29 mmol, 1.43 mL, 3N) y H₂O₂ (12.88 mmol, 1.32 mL, 30% de solución en agua). Después de calentamiento de la reacción a 50 °C por 30 minutos, fue enfriada hasta temperatura ambiente y se neutralizó mediante la adición de agua. La mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo (3X). La capa orgánica fue secada sobre Na₂SO₄ anhidro, filtrada y concentrada al vacío. El residuo fue purificado mediante cromatografía flash usando 30 % de acetato de etilo-hexanos para dar una mezcla 1:1 de los alcoholes C-5 y C-6.

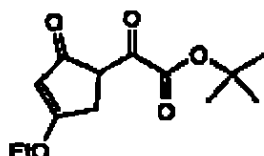
Isómero menos polar (alcohol C-6, Compuesto 17) RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃): δ 7.2 (m, 5H), 5.35 (d, J=14.9 Hz, 1H), 5.31 (d, J=14.6 Hz, 1H), 4.99 (dd, J=3.4, 6.9 Hz, 1H), 2.9 (m, 2H), 2.6 (m, 1H), 2.35 (m, 1H). LC-MS: 2.76 min; (M+H) =240.1.

Isómero más polar (alcohol C-6) RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃): δ 7.4-7.2 (m, 5H), 5.28 (d, J=14.8 Hz, 1H), 5.25 (d, J=14.9 Hz, 1H), 5.01 (m, 1H), 3.13 (dd, J=6.4, 15.8 Hz, 1H), 2.89 (dd, J=6.6, 16.2 Hz, 1H), 2.68 (dd, J=3.7, 16.0 Hz, 1H), 2.52 (dd, J=3.4, 12 Hz, 1H). LC-MS: 2.60 min; (M+H) =240.1.

Ejemplo 9.8: Preparación del Intermediario 1-bencil-3-ciano-1,6-dihidro-ciclopentapirazol-5-il éster del ácido trifluoro-metanosulfónico y 1-bencil-3-ciano-1,4-dihidro-ciclopentapirazol-5-il éster del ácido trifluoro-metanosulfónico como una mezcla regio-isomérica.

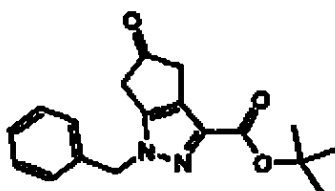


Paso A: Preparación de ter-butil éster del ácido (4-etoxi-2-oxo-ciclopent-3-enil)-oxo-acético.



A una solución de 3-etoxi ciclopentenona (2.12 g, 16.82 mmol) en THF anhidro (40 mL) enfriada hasta -78°C bajo una atmósfera de nitrógeno se le agregó diisopropil amida de litio (12 mL, 24 mmol, 2.0 M en THF). Después de 15 minutos, se agregó una solución de di-*ter*-butil dioxalato (3.73 g, 18.5 mmol) en THF (15 mL). La mezcla de reacción se agitó a -78°C por 15 minutos y luego se tibió hasta -20°C y se agitó por un adicional de 15 minutos. La reacción fue neutralizada con HCl 1N (40 mL) y se extrajo con acetato de etilo (3X). La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y concentró al vacío. El residuo fue purificado mediante cromatografía flash (SiO_2) usando 35% de acetato de etilo-hexanos para dar el producto deseado (2.53 g) como un sólido blanco opaco.

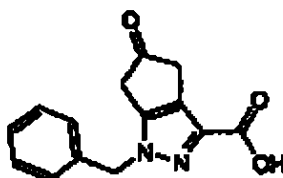
Paso B: Preparación de *ter*-butil éster del ácido 1-bencil-5-oxo-1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico.



A una solución del intermediario del paso A (2.15 g, 8.45 mmol) en etanol (100 mL) se le agregó clorhidrato de bencil hidrazina (1.8 g, 9.22 mmol) y HOAc (10 mL). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente por 16 horas y luego se sometió a reflujo a 70°C por 30 minutos. La reacción fue enfriada hasta temperatura ambiente y se concentró al vacío. El residuo se disolvió en acetato de etilo y se lavó con agua, NaHCO_3 saturado, y salmuera. La capa orgánica fue secada sobre Na_2SO_4 anhidro, filtrada y concentrada al vacío. El residuo fue purificado mediante cromatografía flash

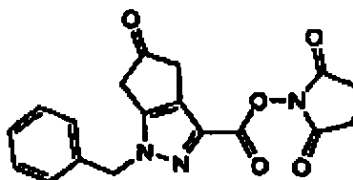
(SiO₂) usando 30 % de acetato de etilo-hexanos para dar el producto deseado (1.64 g) un aceite café.

Paso C: Preparación de ácido 1-bencil-5-oxo-1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico.



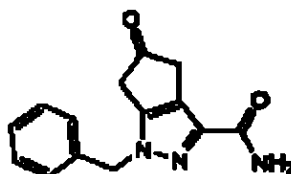
A una solución del intermediario del paso B (1.64 g, 5.25 mmol) en diclorometano (20 mL) se le agregó ácido trifluoroacético (20mL) y la solución resultante se agitó a temperatura ambiente por 4 horas. La mezcla de reacción fue concentrada al vacío y ezaotropada con tolueno (3X). Este material se cargó al siguiente paso sin ninguna purificación adicional.

Paso D: Preparación de 2,5-dioxo-pirrolidin-1-il éster del ácido 1-bencil-5-oxo-1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico.



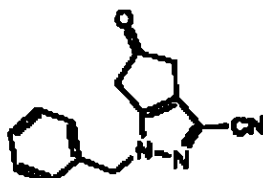
A una solución del intermediario del paso C (1.34 g, 5.25 mmol) en CH₂Cl₂ (50 mL) se le agregó N-hidroxi succinimida (1.21 g, 10.5 mmol) seguido por EDC (2.01 g, 10.5mmol). Después de agitación a temperatura ambiente por 18 horas, la mezcla de reacción fue concentrada al vacío. El residuo se diluyó con acetato de etilo (200 mL), se lavó con solución saturada de NaHCO₃, y salmuera. La capa orgánica fue secada sobre Na₂SO₄ anhidro, filtrada y concentrada *al vacío*. Se obtuvo un sólido amarillo.

Paso E: Preparación de la amida del ácido 1-bencil-5-oxo-1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico.



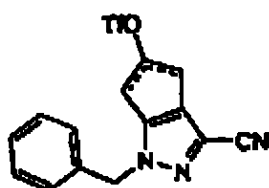
A una solución del intermediario del paso D (2.0 g, 5.25 mmol) en 1,4-dioxano (50 mL) se le agregó NH_4OH (14.8 N, 10.0 eq, 3.53 mL). Se formó un precipitado inmediatamente. Después de agitación a temperatura ambiente por 15 minutos, la mezcla de reacción fue filtrada a través de un embudo aglomerado y el precipitado se lavó con 1,4-dioxano. El filtrado fue concentrado *al vacío* para dar un sólido.

Paso F: Preparación de 1-bencil-5-oxo-1,4,5,6-tetrahidrociclopentapirazol-3-carbonitrilo.



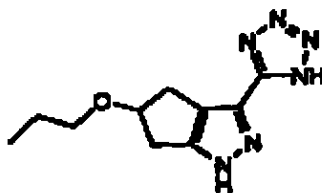
A una solución del intermediario del paso E (5.25 mmol) en DMF (60 mL) se le agregó cloruro cianúrico (3.12g, 17 mmol) en tres porciones. Después de 30 minutos a temperatura ambiente, la reacción fue extinguida con agua y se extrajo con acetato de etilo (2X). La capa orgánica se lavó con agua, salmuera y se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró, y concentrada *al vacío*. El residuo fue purificado mediante cromatografía flash (SiO_2) usando 30% de acetato de etilo-hexanos para dar el producto deseado (0.95 g) como un sólido amarillo.

Paso G: Preparación de 1-bencil-3-clano-1,6-dihidrociclopentapirazol-5-il éster del ácido trifluoro-metanosulfónico y 1-bencil-3-clano-1,4-dihidro-ciclopentapirazol-5-il éster del ácido trifluoro-metanosulfónico (mezcla).

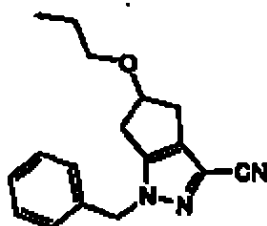


A una solución del intermediario del paso F (447 mg, 1.87 mmol) en THF anhidro (14 mL) a -78°C se le agregó una solución de diisopropil amida de sodio recién preparada (1.89 mmol) en THF (6 mL). Después de agitación, la reacción a -78°C por 30 minutos se agregó 2[N,N-bis(trifluorometilsufonil)amina]-5-cloropiridina (1.4 g, 3.6 mmol). La reacción se tibió hasta -20°C y se agitó por 3 horas. La reacción fue extinguida con solución saturada de NH_4Cl , y la mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo, se lavó con solución de HCl 1N, solución saturada de NaHCO_3 y se secó sobre Na_2SO_4 anhidro. La solución fue filtrada y concentrada al vacío. El residuo fue purificado en el cromatotrón usando un rotor 2000-micron (SiO_2) y 5% de acetato de etilo-hexanos como eluyente para dar 393 mg del producto deseado como una mezcla 2:1 de regio-isómeros de doble enlace. RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3): (Isómero mayor) δ 7.45-7.3 (m, 5H), 6.06 (bt, 1 H), 5.41 (s, 2H), 3.56 (bd, 2H). RMN ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3): (Isómero Menor) δ 7.45-7.3 (m, 5H), 6.63 (bt, 1H), 5.39 (s, 2H), 3.18 (bd, 2H). LC-MS: (M+H) = 370.25.

Ejemplo 9.9: 5-propoxi-3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,4,5,6-tetrahydro-ciclopentapirazol (Compuesto 12).

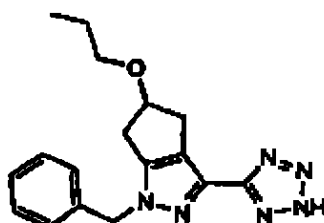


Paso A: Preparación de 1-bencil-5-propoxi-1,4,5,6-tetrahydro-ciclopentapirazol-3-carbonitrilo.



A una solución de 1-bencil-5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidrociclo-penta[c]pirazol-3-carbonitrilo (ver Ejemplo 9.7, 30 mg, 0.125 mmol) en DMF anhidro (2mL) se le agregó hidruro de sodio (6 mg, 0.15 mmol, dispersión al 60% en aceite). Después de agitación por 3 minutos, se agregó bromuro de propilo (14 μ L, 0.15 mmol) y la mezcla resultante se agitó por una hora. Al final de este tiempo se agregaron hidruro de sodio (6 mg, 0.15 mmol, dispersión al 60% en aceite) y bromuro de propilo. Después de 30 minutos la reacción fue neutralizada agregando NH_4Cl saturado (3 mL). La mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo, se lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y concentró *al vacío*. El residuo fue purificado mediante PTLC (SiO_2) usando 15% de acetato de etilo-hexanos para dar el producto deseado.

Paso B: Preparación de 1-bencil-5-propoxi-3-(2H-tetrazol-5-yl)-1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol.

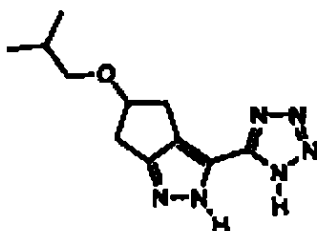


A una solución del intermediario del paso A (25 mg, 0.089 mmol) en 2-propanol (1 mL) se le agregó agua (2 mL), azida de sodio (14 mg, 0.222 mmol) y bromuro de zinc (10 mg, 0.04 mmol). Después de calentamiento de la mezcla de reacción a 90 °C por 18 horas, se enfrió hasta temperatura ambiente y se agregó HCl (3 mL, 3N). La mezcla de reacción se extrajo con acetato de etilo, se lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 , se filtró y concentró *al vacío*. El residuo fue purificado mediante PTLC (SiO_2) usando 100% de acetato de etilo para dar el producto deseado.

Paso C: 5-propoxi-3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol (Compuesto 12).

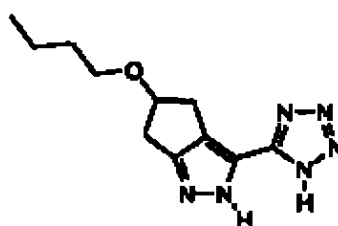
A una solución del intermediario del paso B (26 mg, 0.08 mmol) en DMSO (0.6 mL) se le agregó potasio-*t*-butoxido (0.6 mL, 0.6 mmol, 1.0 M en THF). Se burbujeó gas oxígeno a través de la mezcla de reacción por 15 minutos. La reacción fue extinguida con HCl (3 mL, 3N). La mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo (5X), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró *al vacío*. El residuo fue purificado mediante HPLC de fase reversa para dar el compuesto del título. RMN ¹H (CDCl₃) δ 4.80 (m, 1H), 3.51 (m, 2H), 3.24 (dd, *J*=6.8, 15.5 Hz, 1H), 3.18 (dd, *J*=6.9, 16.0 Hz, 1H), 2.85 (dd, *J*=4.1, 15.6 Hz, 1H), 2.79 (dd, *J*=4.4, 16.1 Hz, 1H), 1.62 (m, 2H), 0.96 (t, *J*=7.6 Hz, 3H). LC-MS: 2.15 min; (M+H) =235.

Ejemplo 9.10: 5-isobutoxi-3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol (Compuesto 15).



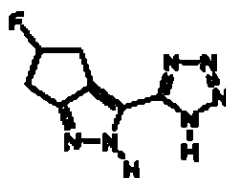
El compuesto del título se preparó a partir del 1-bencil-5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidrociclopenta[c]pirazol-3-carbonitrilo (ver Ejemplo 9.7) usando un procedimiento similar descrito para la síntesis del Ejemplo 9.8. RMN ¹H (CDCl₃) δ 4.77 (m, 1H), 3.33 (m, 2H), 3.23 (dd, *J*=6.9, 15.5 Hz, 1H), 3.17 (dd, *J*=6.9, 16.0 Hz, 1H), 2.85 (dd, *J*=4.1, 15.6 Hz, 1H), 2.79 (dd, *J*=4.2, 15.9 Hz, 1H), 1.85 (m, 1H), 0.94 (d, *J*=6.7 Hz, 3H). LC-MS: 2.42 min; (M+H) =249.

Ejemplo 9.11: 5-butoxi-3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol (Compuesto 16).

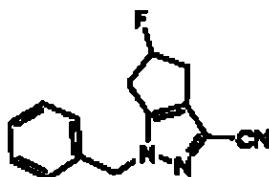


El compuesto del título se preparó a partir de 1-bencil-5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidrociclopenta[c]pirazol-3-carbonitrilo (ver Ejemplo 9.7) usando un procedimiento similar al descrito para la síntesis del Ejemplo 9.8. RMN ^1H (CDCl_3) δ 4.78 (m, 1 H), 3.56 (m, 2H), 3.24 (dd, $J=6.8$, 15.6 Hz, 1H), 3.17 (dd, $J=6.9$, 15.9 Hz, 1H), 2.84 (dd, $J=4.1$, 15.6 Hz, 1H), 2.77 (dd, $J=4.6$, 16.0 Hz, 1H), 1.58 (m, 2H), 1.42 (m, 2H), 0.95 (t, $J=7.3$ Hz, 3H). LC-MS: 2.50 min; (M+H) =249.

Ejemplo 9.12: 5-fluoro-3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,4,5,6-tetrahidrociclopentapirazol (Compuesto 14).



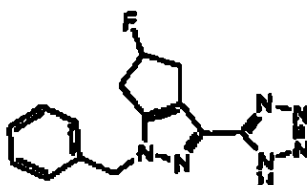
Paso A: Preparación de 1-bencil-5-fluoro-1,4,5,6-tetrahidrociclopentapirazol-3-carbonitrilo.



A una solución del 1-bencil-5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidrociclopenta[c]pirazol-3-carbonitrilo (ver Ejemplo 9.7, 30 mg, 0.125 mmol) en diclorometano anhidro (0.9 mL) se le agregó DAST (33 μL , 0.25 mmol) bajo una atmósfera

de nitrógeno. Después de agitación a temperatura ambiente por 15 minutos, la mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo, se lavó con solución saturada de NaHCO_3 y salmuera. La capa orgánica fue secada sobre Na_2SO_4 anhidro, filtrada y concentrada al vacío. El residuo fue purificado mediante PTLC (SiO_2) usando 30% de acetato de etilo-hexanos para dar el compuesto deseado (16 mg).

Paso B: Preparación de 1-bencil-5-fluoro-3-(1H-tetrazol-5-yl)-1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol.

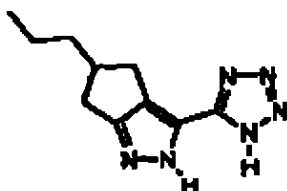


El compuesto se preparó a partir del intermediario ciano del Paso A usando un procedimiento similar al descrito en el Ejemplo 9.8, Paso B.

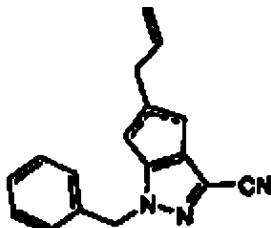
Paso C: 5-fluoro-3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol (Compuesto 14).

A una solución del intermediario del paso B (13 mg, 0.04 mmol) en MeOH (1 mL) se agregó ácido fórmico (0.1 mL) seguido por negro de paladio (10 mg). Después de agitación de la mezcla de reacción bajo atmósfera de nitrógeno por 96 horas, fue filtrada y concentrada *al vacío*. El residuo fue purificado mediante HPLC de fase reversa (Gilson) para dar el compuesto del título (4.9mg). RMN ^1H (CD_3OD , 500 MHz) δ 5.8 (d, J = 51.9 Hz, 1H), 3.31-3.17 (m, 2H), 3.14-2.92 (m, 2H). LC-MS: 0.99 min; (M+H) = 195.17.

Ejemplo 9.13: 5-propil-3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol (Compuesto 11).

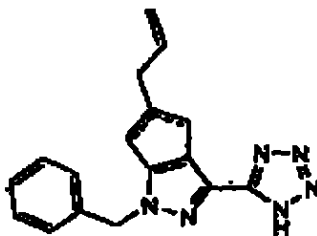


Paso A: Preparación de 5-allyl-1-bencil-1,6-dihidro-ciclopentapirazol-3-carbonitrilo y 5-allyl-1-bencil-1,4-dihidro-ciclopentapirazol-3-carbonitrilo (mezcla).



A una solución del intermediario éster trifluorometanosulfónico descrito en el Ejemplo 9.8 (114 mg, 0.307 mmol) en THF anhidro (2 mL) se le agregó tri-n-butyl alil estaño (112 mg, 0.338 mmol), cloruro de litio (39 mg, 0.923 mmol) y tetrakis trifenil fosfina paladio (0) (7.1 mg, 0.006 mmol). Después de someter a reflujo la mezcla de reacción por 6 horas, esta fue enfriada hasta temperatura ambiente y filtrada. El residuo fue concentrado *al vacío* y purificado en el cromatotrón usando un rotor 2000-micron (SiO₂) y 20% de acetato de etilo-hexanos como el eluyente para dar el producto deseado (33 mg).

Paso B: Preparación de 5-allyl-1-bencil-3-(1H-tetrazol-5-yl)-1,6-dihidro-ciclopentapirazol y 5-allyl-1-bencil-3-(1H-tetrazol-5-yl)-1,4-dihidro-ciclopentapirazol (mezcla).

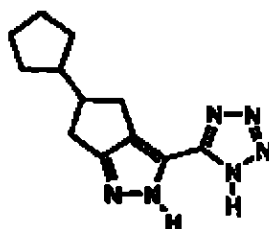


El compuesto se preparó a partir del intermediario obtenido en el paso A anterior usando un procedimiento similar al descrito en el Ejemplo 9.8, paso B.

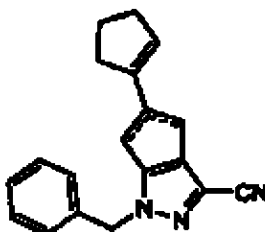
Paso C: 5-propil-3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol.

A una solución del intermediario del paso B (18 mg, 0.059 mmol) en metanol se le agregó unas pocas gotas de HCl concentrado hasta que la reacción era homogénea. Se agregó Pd/C (1.8 mg) y la mezcla resultante se agitó bajo una atmósfera de hidrógeno (balón) por 24 horas. La mezcla de reacción fue filtrada, concentrada *al vacío* y purificada mediante HPLC de fase reversa para dar el compuesto del título. RMN ^1H (CD_3OD , 500 MHz) δ 3.06 (m, 2H), 2.97 (dd, $J=7.5, 15.1$ Hz, 1H), 2.5 (m, 2H), 1.6 (m, 2H), 1.4 (m, 2H), 0.98 (t, $J=7.3$ Hz, 3H). LC-MS: 2.60 min; (M+H) = 219. 36.

Ejemplo 9.14: 5-ciclopentil-3-H-tetrazol-5-Il)-2,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol (Compuesto 13).



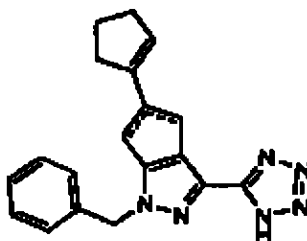
Paso A: Preparación de 1-bencil-5-ciclopent-1-enil-1,6-dihidro-ciclopentapirazol-3-carbonitrilo y 1-bencil-5-ciclopent-1-enil-1,4-dihidro-ciclopentapirazol-3-carbonitrilo (mezcla).



A una solución del intermediario éster trifluorometanosulfónico descrito en el Ejemplo 9.8 (185 mg, 0.501 mmol) en 1,4-dioxano se le agregó ácido ciclopenten-1-il-borónico (62 mg, 0.551 mmol), fosfato de potasio (160 mg, .

751 mmol) y tetrakis trifenil fosfina paladio (0). La mezcla de reacción se calentó a 85 °C. Después que la reacción estaba completa, se diluyó con acetato de etilo, se lavó con NaOH 1N, salmuera y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. La solución fue filtrada y concentrada *al vacío*. El residuo fue purificado en el cromatotrón usando un rotor de 2000-micrones (SiO₂) y 20 % de acetato de etilo-hexanos como el eluyente.

Paso B: Preparación de 1-bencil-5-ciclopent-1-enil-3-(1H-tetrazol-5-ii)-1,6-dihidro-ciclopentapirazol y 1-bencil-5-ciclopent-1-enil-3-(1H-tetrazol-5-ii)-1,4-dihidro-ciclopentapirazol (mezcla).



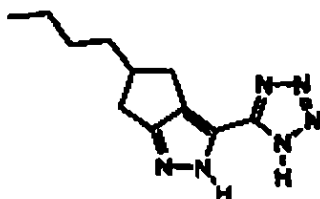
El compuesto se preparó a partir del intermediario obtenido en el paso A anterior, usando un procedimiento similar al descrito en el Ejemplo 9.8, paso B.

Paso C: 5-ciclopentil-3-(1H-tetrazol-5-ii)-2,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol (Compuesto13).

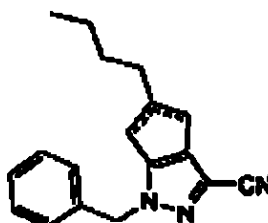
A una solución del intermediario del paso B (16 mg, 0.048 mmol) en metanol (2 mL) se le agregó ácido fórmico (200 µL). Se adicionó negro de paladio (8.2 mg, 0.078 mmol), y la mezcla resultante fue purgada con nitrógeno y se agitó por 24 horas. Se agregó otra porción del negro de paladio (8.2 mg, 0.078 mmol). Después de agitación por 48 horas, la reacción fue filtrada, concentrada *al vacío*, y purificada mediante HPLC de fase reversa para dar

el compuesto del título. RMN ^1H NMR (CD_3OD , 500 MHz) δ 3.1-2.9 (m, 2H), 2.6 (m, 2H), 2.03 (m, 2H), 1.87 (m, 2H), 1.63 (m, 2H), 1.59 (m, 2H), 1.28 (m, 2H). LC-MS: 2.99 min; (M+H) = 245.46.

Ejemplo 9.15: 5-butil-3-(1H-tetrazol-5-il)-2,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol (Compuesto 8).

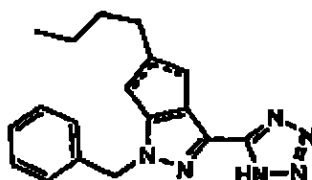


Paso A: Preparación de 1-bencil-5-butil-1,6-dihidro-ciclopentapirazol-3-carbonitrilo y 1-bencil-5-butil-1,4-dihidro-ciclopentapirazol-3-carbonitrilo (mezcla).



A una solución del intermediario éster trifluorometanosulfónico descrito en el Ejemplo 9.8 (180 mg, 0.486 mmol) en tolueno (3 mL) se le agregó ácido n-butyl borónico (99 mg, 0.973 mmol), K_2CO_3 (201 mg, 1.46 mmol), $\text{PdCl}_2(\text{dppf})_2$ (12 mg, 0.0146 mmol) y Ag_2O (225 mg, 0.973 mmol). Después de reflujo de la mezcla de reacción por 6 horas, esta fue enfriada hasta temperatura ambiente y filtrada. El residuo fue concentrado *al vacío* y purificado en el cromatotrón usando un rotor de 2000 micrones (SiO_2) y 5% de acetato de etilo-20% de acetato de etilo-hexanos como eluyente para dar el producto deseado (52mg).

Paso B: Preparación de 1-bencil-5-butil-3-(1H-tetrazol-5-il)-1,6-dihidro-ciclopentapirazol y 1-bencil-5-butil-3-(1H-tetrazol-5-il)-1,4-dihidro-ciclopentapirazol (mezcla).



El compuesto se preparó a partir del intermediario obtenido en el paso A anterior, usando un procedimiento similar al descrito en el Ejemplo 9.8 paso B.

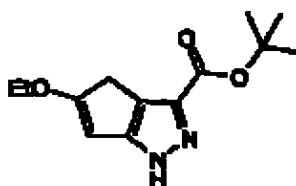
Paso C: 5-butil-3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol (Compuesto 8).

El compuesto se prepare a partir del intermediario obtenido en el paso B anterior, usando un procedimiento similar al descrito en el Ejemplo 5 paso C. RMN ^1H (CD_3OD , 500 MHz) δ 3.1 (m, 2H), 2.9 (m, 1H), 2.5 (m, 2H), 1.6 (m, 2H), 1.4 (m, 4H), 0.9 (t, $J=7.0$ Hz, 3H). LC-MS: 2.86 min; $(\text{M}+\text{H})=233.34$.

Ejemplo 9.16: 5-metil-3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,6-dihidro-ciclopentapirazol (Compuesto 9) y 5-metil-3-(1H-tetrazol-5-yl)-2,4-dihidro-ciclopentapirazol (Compuesto 10).

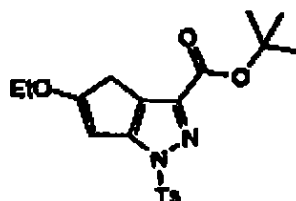


Paso A: Preparación de ter-butyl éster del ácido 5-etoxi-1,4-dihidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico.



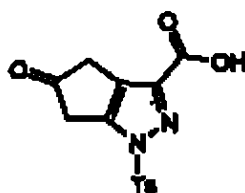
A una solución en etanol (5 mL) del cetoéster (254 mg, 1.0 mmol), preparada a partir de 3-etoxiciclopentenona como en el paso A del Ejemplo 9.8 anterior, se le agregó hidrato de hidrazina (34 μ L, 1.1 mmol), seguida por ácido acético (0.5 mL). Después de reflujo de la mezcla de reacción por 1.5 horas, esta fue enfriada hasta temperatura ambiente y se concentró al vacío. El residuo fue suspendido en agua y se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica fue secada sobre Na_2SO_4 anhidro, filtrada y concentrada *al vacío*. El residuo fue purificado mediante cromatografía flash (SiO_2) usando 25% de acetato de etilo-hexanos para dar el producto deseado como un sólido blanco.

Paso B: Preparación de ter-butil éster del ácido 5-etoxi-1-(toluen-4-sulfonil)-1,4-dihidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico.



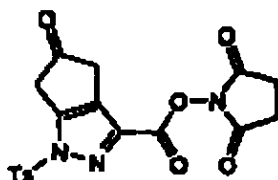
A una solución del intermediario de pirazol del paso A (275 mg, 1.1 mmol) anterior en CH_2Cl_2 (5 mL) se le agregó piridina (178 μ L, 2.2 mmol) y cloruro de p-toluen sulfonilo (230 mg, 1.21 mmol). Después de agitación de la mezcla de reacción resultante a temperatura ambiente por 3 horas, se diluyó con CH_2Cl_2 , se lavó con HCl 1N, NaHCO_3 saturado, se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y concentró al vacío. El residuo fue purificado mediante cromatografía flash (SiO_2) usando 10% de acetato de etilo-hexanos.

Paso C: Preparación de ácido 5-oxo-1-(toluen-4-sulfonil)-1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico.



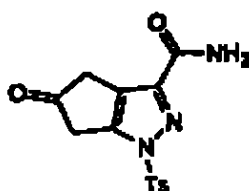
A una solución del intermediario del paso B anterior, (414 mg, 1.02 mmol) en CH_2Cl_2 (2 mL) se le agregó ácido trifluoroacético (2 mL). Después de agitación de la reacción a temperatura ambiente por 1.5 horas, esta fue concentrada *al vacío* y azeotropada con tolueno (2X). Este material se usó en el siguiente paso sin ninguna purificación adicional.

Paso D: Preparación de 2,5-dioxo-pirrolidin-1-il éster del ácido 5-oxo-1-(toluen-4-sulfonyl)-1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico.



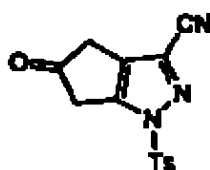
A una solución del intermediario del paso C anterior, (320 mg, 1.0 mmol) en CH_2Cl_2 (20 mL) se le agregó N-hidroxisuccinimida (230 mg, 2.0 mmol) seguida por EDC (384 mg, 2.0 mmol). Después de agitación a temperatura ambiente por 18 horas, la mezcla de reacción fue concentrada *al vacío*. El residuo se diluyó con acetato de etilo (20 mL), se lavó con solución saturada de NaHCO_3 , y salmuera. La capa orgánica fue secada sobre Na_2SO_4 anhidro, filtrada y concentrada *al vacío*. Se obtuvo un sólido amarillo.

Paso E: Preparación de amida del ácido 5-oxo-1-(toluen-4-sulfonyl)-1,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-carboxílico.



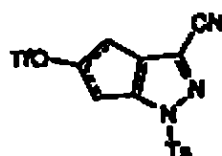
A una solución del intermediario del paso D anterior, (380 mg, 0.91 mmol) en 1,4-dioxano (10 mL) se le agregó NH_4OH (14.8 N, 10.0 eq, 0.61 mL). Un precipitado se formó inmediatamente. Después de agitación a temperatura ambiente por 15 minutos, la mezcla de reacción fue filtrada a través de un embudo sinterizado y el precipitado fue lavado con 1,4-dioxano. El filtrado fue concentrado *al vacío* para dar un aceite amarillo.

Paso F: Preparación de 5-oxo-1-(toluen-4-sulfonyl)-1,4,5,6-tetrahydro-ciclopentapirazol-3-carbonitrilo.



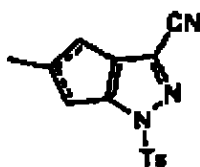
A una solución del intermediario del paso E anterior (0.91 mmol) en DMF anhidro (5 mL) se le agregó cloruro cianúrico (334 mg, 2.0 mmol) en dos porciones. Después de agitación a temperatura ambiente por 15 minutos, la reacción fue extinguida vertiéndola en agua (10 mL). La mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo, se lavó con NaHCO_3 saturado, salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y concentró *al vacío*. El residuo fue purificado mediante cromatografía flash (SiO_2) usando 25 % de acetato de etilo-hexanos. Se obtuvo un sólido blanco.

Paso G: Preparación de 3-ciano-1-(toluen-4-sulfonyl)-1,6-dihidro-ciclopentapirazol-5-il éster del ácido trifluoro-metanosulfónico y 3-ciano-1-(toluene-4-sulfonyl)-1,4-dihidro-ciclopentapirazol-5-il éster del ácido trifluoro-metanosulfónico (mezcla).



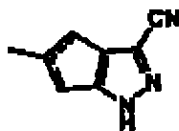
A una solución del intermediario del paso F (100 mg, 0.33mmol) en THF anhidro (5 mL) a -78°C se le agregó una solución de diisopropil amida de litio (0.33mmol, 166 μL , 2.0 M en THF) en THF (6 mL). Después de agitación de la reacción a -78°C por 30 minutos, se agregó 2[N,N-bis(trifluorometilsufonil)amina]-5-cloropiridina (195 mg, 0.496 mmol). La reacción se tibió hasta 0°C y se agitó por 45 minutos. La reacción fue extinguida con solución de HCl 1N, y la mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo, se lavó con solución saturada de NaHCO_3 y se secó sobre Na_2SO_4 anhidro. La solución fue filtrada y concentrada *al vacío*. El residuo fue purificado mediante cromatografía flash (SiO_2) usando 5% de acetato de etilo-hexanos como eluyente para dar 79 mg del producto deseado como una mezcla 4:1 de los regio-isómeros de doble enlace.

Paso H: Preparación de 5-metil-1-(toluen-4-sulfonil)-1,6-dihidro-ciclopentapirazol-3-carbonitrilo y 5-metil-1-(toluen-4-sulfonil)-1,4-dihidro-ciclopentapirazol-3-carbonitrilo (mezcla).



A una solución del intermediario del paso G anterior, (79 mg, 0.182 mmol) en tolueno (1.5 mL) se le agregó cloruro de litio (39 mg, 0.912 mmol), tetrametil estaño (126 μL , 0.912 mmol) y tetrakis trifenil fosfina paladio (0). Después de reflujo de la mezcla de reacción por 45 minutos, esta fue enfriada hasta temperatura ambiente, diluida con acetato de etilo, lavada con agua. La capa orgánica fue secada sobre Na_2SO_4 anhidro, filtrada y concentrada *al vacío*. El residuo fue purificado mediante cromatografía flash (SiO_2) usando 30 % de acetate de etilo-hexanos para dar (28 mg) el producto deseado.

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



A una solución del intermediario del paso H anterior, (28 mg, 0.093 mmol) en THF anhidro (3 mL) se le agregó fluoruro de tetrabutil amonio (93 μ L, 0.093 mmol, 1.0 M en THF). Después del reflujo de la mezcla de reacción por 30 minutos, esta fue enfriada hasta temperatura ambiente y se concentró *al vacío*. El residuo se disolvió en acetato de etilo, se lavó con NaHCO_3 saturado, salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y concentró *al vacío*. El residuo fue purificado mediante cromatografía flash (SiO_2) usando 30% de acetato de etilo-hexanos para dar un sólido blanco.

Paso J: 5-metil-3-(1H-tetrazol-5-il)-2,6-dihidro-ciclopentapirazol (Compuesto 9) y 5-metil-3-(1H-tetrazol-5-il)-2,4-dihidro-ciclopentapirazol (Compuesto 10).

A una solución del intermediario del paso I anterior (9.0 mg, 0.062 mmol) en 2-propanol (1 mL) se le agregó agua (0.5 mL), azida de sodio (12 mg, 0.186 mmol) y bromuro de zinc (6.5 mg, 0.031 mmol). Después del calentamiento de la mezcla de reacción a 90 °C por 18 horas, esta fue enfriada hasta temperatura ambiente y se agregó HCl (1.5 mL, 3N). La mezcla de reacción se extrajo con acetato de etilo, se lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 , se filtró y concentró *al vacío* para dar el producto deseado como una relación 2:1 de regio-isómeros de doble enlace. Isómero (a): RMN ^1H (CD_3OD , 500 MHz) δ 6.43 (bs, 1 H), 3.3 (s, 2H), 2.2 (s, 3H). Isómero (b): RMN ^1H (CD_3OD , 500 MHz) δ 6.58 (bs, 1H), 3.24 (s, 2H), 2.15 (s, 3H). LC-MS: 1.86 min, (M+H) = 189.1.

A lo largo de esta solicitud se citan varias publicaciones, patentes y solicitudes de patente publicadas con el fin de describir y revelar más completamente la invención y el estado de la técnica con la cual se relaciona.

Aunque una variedad de vectores de expresión están disponibles en la técnica, para propósitos de utilización de GPCRs humanos endógenos y no endógenos, se prefiere mejor que el vector utilizado sea pCMV. Este vector fue depositado con La Colección de Cultivo del Tipo Americano (American Type Culture Collection) (ATCC) en Octubre 13 de 1998 (10801 University Blvd., Manassas, VA 20110-2209 USA) bajo las provisiones del tratado de Budapest para el Reconocimiento Internacional del Depósito de Microorganismos para el Propósito del Procedimiento de Patente. El ADN fue probado mediante el ATCC y se determinó que era viable. El ATCC ha sido asignado al siguiente número de depósito pCMV: ATCC#203351.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de Formula (I):



en donde:

X es NH ó O;

R₁ se selecciona de:

H,

halógeno,

hidroxi,

tioxi,

ciano,

nítro,

haloalquilo C₁₋₄,

amino,

alquilamino C₁₋₄,

dialquilamino C₂₋₈,

alquilo C₁₋₄,

alcoxi C₁₋₄,

alquenilo C₂₋₄,

alquinilo C₂₋₄,

cicloalquilo C₃₋₅,

haloalcoxi C₁₋₄,

alquilC₁₋₄tio,

alquilC₁₋₄sulfinilo,

alquilC₁₋₄sulfonilo,

haloalquilC₁₋₄tio,

haloalquilC₁₋₄sulfinilo; y

haloalquilC₁₋₄sulfonilo;

R₂ se selecciona de

H,

halógeno,

hidroxi,

tioxi,

ciano,

nítro,

haloalquilo C₁₋₄,

amino,

alquilamino C₁₋₄,

dialquilamino C₂₋₈,

alquilo C₁₋₄,

alcoxi C₁₋₄,

alquenilo C₂₋₄,

alquinilo C₂₋₄,

cicloalquilo C₃₋₅,

haloalcoxi C₁₋₄,

alquiltio C₁₋₄,

alquilC₁₋₄sulfinilo,

alquilC₁₋₄sulfonilo,

haloalquilC₁₋₄tio,

haloalquilC₁₋₄sulfinilo; y

haloalquilC₁₋₄sulfonilo;

o R₂ está ausente;

--- es un enlace sencillo cuando R₂ está presente, o

--- es un enlace doble cuando R₂ está ausente; y

El anillo A es un anillo carbocíclico de 5 miembros o un anillo heterocíclico de 5 miembros.

en donde "anillo carbocíclico de 5 miembros" denota un anillo que contiene carbonos de anillo, en donde dos carbonos de anillo están compartidos por los Anillos A y B, y

en donde "anillo heterocíclico de 5 miembros" denota un anillo carbocíclico de 5 miembros en donde 1, 2 o 3 carbonos de anillo no compartidos por los Anillos A y B son independientemente reemplazados con -O-, -S-, -S(O)-, o -S(O)₂-; y

en donde el Anillo A está opcionalmente sustituido con 1 a 4 sustituyentes seleccionados de:

halógeno,
hidroxi,
tioxi,
ciano,
nitro,
haloalquilo C₁₋₄,
amino,
alquilamino C₁₋₄,
dialquilamino C₂₋₈,
alquilo C₁₋₄,
alcoxi C₁₋₄,
alquenilo C₂₋₄,
alquinilo C₂₋₄,
cicloalquilo C₃₋₅,
haloalcoxi C₁₋₄,
alquiltio C₁₋₄,
alquilC₁₋₄sulfinilo,
alquilC₁₋₄sulfonilo,
haloalquilC₁₋₄tio,
haloalquilC₁₋₄sulfinilo; y
haloalquilC₁₋₄sulfonilo;

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

2. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el Anillo A es un anillo carbocíclico de 5 miembros.

3. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el Anillo A es un anillo heterocíclico de 5 miembros.

4. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el Anillo A es un anillo heterocíclico de 5 miembros, en donde "anillo heterocíclico de 5 miembros" denota un anillo carbocíclico de 5 miembros en donde 1 carbono de anillo no compartido por los Anillos A y B es independientemente reemplazado con -O-, -S-, -S(O)-, o -S(O)₂;

5. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde:

X es NH;

R₁ es H o hidroxil;

R₂ es H o está ausente;

--- es un enlace sencillo cuando R₂ es H, o

--- es un enlace doble cuando R₂ está ausente; y

El anillo A es un anillo carbocíclico de 5 miembros o un anillo heterocíclico de 5 miembros opcionalmente sustituido con 1 a 4 sustituyentes seleccionados de:

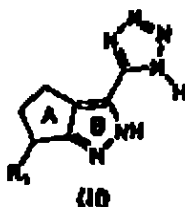
halógeno,

alquilo C₁₋₄,

alcoxi C₁₋₄, y

cicloalquilo C₃₋₅, o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo.

6. Un compuesto de acuerdo con la Reivindicación 1 o 2, que tiene la fórmula (If):



en donde:

R₁ es H o hidroxil; y

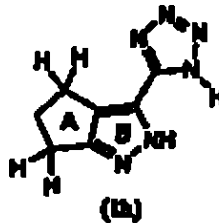
El Anillo A está opcionalmente sustituido con 1 o 2 sustituyentes seleccionados de;

halógeno,

alquilo C₁₋₄,
 alcoxi C₁₋₄; y
 cicloalquilo C₃₋₅;

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

7. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, que tiene la Formula (Ih):



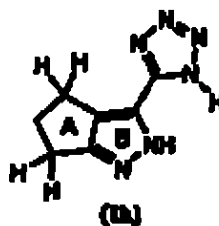
en donde:

El Anillo A está opcionalmente sustituido con 1 o 2 sustituyentes seleccionados de:

halógeno,
 alquilo C₁₋₄,
 alcoxi C₁₋₄, y
 cicloalquilo C₃₋₅;

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

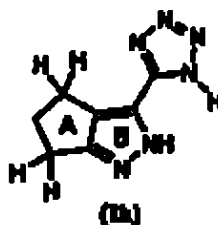
8. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o 2 que tiene la Formula (Ih):



en donde:

El Anillo A no está sustituido o está sustituido con etilo;
 o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo.

9. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, que tiene la Formula (Ih):



en donde:

El Anillo A está sustituido con 1 o 2 sustituyentes seleccionados de:

halógeno,
n-propilo,
n-butilo,
alcoxi C₁₋₄, y
cicloalquilo C₃₋₅;

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

10. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 que es:
3-(1H-tetrazol-5-il)-2,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol
o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo.
11. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 que es:
3-(1H-tetrazol-5-il)-2,6-dihidro-4H-tieno[3,4-c]pirazol
o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo.
12. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 que es:
6-metil-3-(1H-tetrazol-5-il)-2,6-dihidro-4H-furo[3,4-c]pirazol
o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo.
13. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 que es:
3-(1H-tetrazol-5-il)-2,4-dihidro-ciclopentapirazol
o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo.
14. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 que es
3-(1H-tetrazol-5-il)-2,6-dihidro-ciclopentapirazol

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

15. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 que es:
3-(1H-tetrazol-5-il)-2,6-dihidro-4H-furo[3,4-c]pirazol
o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo.
16. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 que es
5-etil-3-(1H-tetrazol-5-il)-2,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol
o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo.
17. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 que es
5-butil-3-(1H-tetrazol-5-il)-2,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol
o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo.
18. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 que es
5-metil-3-(1H-tetrazol-5-il)-2,6-dihidro-ciclopentapirazol
o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo.
19. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 que es
5-metil-3-(1H-tetrazol-5-il)-2,4-dihidro- ciclopentapirazol
o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo.
20. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 que es
5-propil-3-(1H-tetrazol-5-il)-2,4,5,6- tetrahidro-ciclopentapirazol
o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo.
21. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 que es
5-propoxi-3-(1H-tetrazol-5-il)-2,4,5,6- tetrahidro-ciclopentapirazol
o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo.
22. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 que es
5-ciclopentil-3-(1H-tetrazol-5-il)-2,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol
o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo.
23. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 que es
5-fluoro-3-(1H-tetrazol-5-il)-2,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol

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

24. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 que es
5-isobutoxi-3-(1H-tetrazol-5-il)-2,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol
o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo.
25. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 que es
5-butoxi-3-(1H-tetrazol-5-il)-2,4,5,6- tetrahidro-ciclopentapirazol
o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo.
26. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 que es
3-(1H-tetrazol-5-il)-2,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-6-ol
o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo.
27. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 que es
5-metoxi-3-(1H-tetrazol-5-il)-2,4,5,6- tetrahidro-ciclopentapirazol
o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo.
28. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 que es
5,5-difluoro-3-(1H-tetrazol-5-il)-2,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol
o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo.
29. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 que es
5-etoxi-3-(1H-tetrazol-5-il)-2,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol
o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo.
30. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de
acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 26 en combinación con
un vehículo farmacéuticamente aceptable.
31. Un método para producir una composición farmacéutica que
comprende mezclar un compuesto de acuerdo con cualquiera de las
reivindicaciones 1 a 29 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
32. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a
29 para uso en un método para el tratamiento del cuerpo humano o animal
mediante terapia.

33. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 29 para uso en un método para el tratamiento de un trastorno metabólico relacionado del cuerpo humano o animal mediante terapia.

34. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 29 para uso en un método para el tratamiento de un trastorno metabólico relacionado del cuerpo humano o animal mediante terapia, en donde dicho trastorno se selecciona de: dislipidemia, aterosclerosis, enfermedad cardíaca coronaria, resistencia a la insulina, y diabetes tipo 2.

35. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 29 para uso en un método para el tratamiento de arterioesclerosis del cuerpo humano o animal mediante terapia.

36. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 29 para uso en un método para elevar el HDL del cuerpo humano o animal mediante terapia.

37. El uso de un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 29 para la fabricación de un medicamento para uso en el tratamiento de un trastorno metabólico relacionado.

38. El uso de un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 29 para la fabricación de un medicamento para uso en el tratamiento de un trastorno metabólico relacionado seleccionado del grupo que consiste de dislipidemia, aterosclerosis, enfermedad cardíaca coronaria, resistencia a la insulina y diabetes tipo 2.

39. El uso de un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 29 para la fabricación de un medicamento para uso en el tratamiento de aterosclerosis.

40. El uso de un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 29 para la fabricación de un medicamento para uso en la elevación del HDL en un individuo.