



(51) International Patent Classification:

C07D 471/14 (2006.01) A61P 13/12 (2006.01)
A61K 31/4985 (2006.01)

(21) International Application Number:

PCT/US2017/047479

(22) International Filing Date:

18 August 2017 (18.08.2017)

(25) Filing Language:

English

(26) Publication Language:

English

(30) Priority Data:

62/379,372 25 August 2016 (25.08.2016) US

(71) Applicant: ELI LILLY AND COMPANY [US/US]; Lilly
Corporate Center, Indianapolis, Indiana 46285 (US).

(72) Inventors: REKHTER, Mark David; c/o Eli Lilly
and Company, P.O. Box 6288, Indianapolis, Indiana
46206-6288 (US). SHI, Qing; c/o Eli Lilly and Company,
P.O. Box 6288, Indianapolis, Indiana 46206-6288 (US).

(74) Agent: LENTZ, Nelsen L. et al.; Eli Lilly and Company,
P.O. Box 6288, Indianapolis, Indiana 46206-6288 (US).

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of national protection available): AE, AG, AL, AM,
AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ,
CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO,
DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN,
HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP,
KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME,
MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ,
OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA,
SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN,
TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH,
GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ,
UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ,
TM), European (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK,
EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV,
MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM,
TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW,
KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Declarations under Rule 4.17:

- as to applicant's entitlement to apply for and be granted a
patent (Rule 4.17(ii))
- as to the applicant's entitlement to claim the priority of the
earlier application (Rule 4.17(iii))

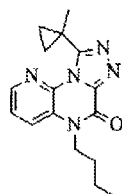
Published:

- with international search report (Art. 21(3))



WO 2018/039051 A1

(54) Title: TRIAZOLOPYRAZINONE DERIVATIVE USEFUL AS A HUMAN PDE1 INHIBITOR



(I)

(57) Abstract: The present invention provides a compound of Formula I, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, for use as a human PDE1 inhibitor.

DERIVADO DE TRIAZOLOPIRAZINONA ÚTIL COMO UN INHIBIDOR DE PDE1
HUMANA

CAMPO DE LA INVENCION

5 La presente invención se refiere a un cierto
inhibidor de PDE1 humana, a composiciones farmacéuticas que
comprenden el compuesto, a métodos para usar el compuesto
para tratar trastornos fisiológicos, y a intermediarios y
procesos útiles en la síntesis del compuesto.

10 **ANTECEDENTES DE LA INVENCION**

Las fosfodiesterasas (PDEs, por sus siglas en
inglés), son enzimas que regulan los niveles celulares de
cAMP y cGMP controlando la velocidad en la cual estos
nucleótidos cíclicos son hidrolizados. La PDE1, una PDE
15 dependiente de calcio y calmodulina, es una de al menos 11
familias de PDE conocidas. La PDE1 es expresada en muchos
tejidos, incluyendo el cerebro, corazón, pulmón, riñón, y
músculo liso. En adición, la PDE1 está comprendida de una
familia de tres isoformas conocidas, PDE1A, PDE1B, y PDE1C.

20 Los pacientes que sufren de diabetes a menudo
desarrollan una forma de enfermedad renal crónica referida
como enfermedad renal diabética (o nefropatía diabética). Se
ha estimado que la enfermedad renal diabética puede afectar
tanto como 40 por ciento de pacientes diabéticos. Las opciones
25 de tratamiento para enfermedad renal diabética están

limitadas e incluyen el uso de medicaciones a presión sanguínea inferior, manejo de niveles de glucosa en sangre, dieta, y peso, e implementación de la actividad física regular. De este modo, existe una necesidad de elecciones de
5 tratamiento adicionales para pacientes que sufren de enfermedad renal crónica, particularmente enfermedad renal crónica.

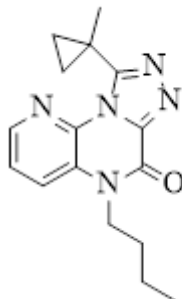
La Patente Estadounidense No. 8,299,080, describe ciertos derivados de quinoxalina que tienen actividad de
10 inhibición de PDE9 útiles para tratar varios trastornos tales como disuria e hipertensión. En adición, la Patente Europea No. 0 040 401, describe cierta actividad anti-hipertensiva de triazoloquinoxalin-4-onas sustituidas.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

15 La presente invención proporciona un cierto compuesto novedoso que es un inhibidor de PDE1 humana. En adición, la presente invención proporciona un cierto compuesto novedoso que es un inhibidor selectivo de PDE1A, PDE1B, y PDE1C humana, con relación a otras PDEs humanas,
20 tales como PDE2A, PDE3A, PDE4D, PDE5A, PDE6AB, PDE7B, PDE8A, PDE9A, PDE10A, y PDE11A. Además, la presente invención proporciona un cierto compuesto novedoso que puede tener efectos antihipertensivos y también puede mejorar el flujo sanguíneo renal. En adición, el compuesto de la presente
25 invención puede reducir la fibrosis renal.

Por consiguiente, la presente invención proporciona un compuesto de Fórmula I:

5



Fórmula I

o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable.

La presente invención también proporciona un método
10 para tratar enfermedad renal crónica en un paciente, que
comprende administrar a un paciente en necesidad de tal
tratamiento una cantidad efectiva de un compuesto de Fórmula
I.

La presente invención también proporciona un método
15 para tratar enfermedad renal diabética en un paciente, que
comprende administrar a un paciente en necesidad de tal
tratamiento una cantidad efectiva de un compuesto de Fórmula
I.

La presente invención también proporciona un método
20 para tratar hipertensión en un paciente, que comprende
administrar a un paciente en necesidad de tal tratamiento una
cantidad efectiva de un compuesto de Fórmula I.

En adición, la invención proporciona un compuesto
de Fórmula I para uso en terapia. La invención además
25 proporciona un compuesto de Fórmula I para uso en el

tratamiento de enfermedad renal crónica. En adición, la invención proporciona un compuesto de Fórmula I para uso en el tratamiento de enfermedad renal diabética. En adición, la invención proporciona un compuesto de Fórmula I para uso en el tratamiento de hipertensión. Adicionalmente, la invención proporciona el uso de un compuesto de Fórmula I para la manufactura de un medicamento para el tratamiento de enfermedad renal crónica. Adicionalmente, la invención proporciona el uso de un compuesto de Fórmula I para la manufactura de un medicamento para el tratamiento de enfermedad renal diabética. La invención además proporciona el uso de un compuesto de Fórmula I para la manufactura de un medicamento para el tratamiento de hipertensión.

La invención además proporciona una composición farmacéutica, que comprende un compuesto de Fórmula I con uno o más portadores, diluyentes, o excipientes farmacéuticamente aceptables. La invención además proporciona un proceso para preparar una composición farmacéutica, que comprende mezclar un compuesto de Fórmula I con uno o más portadores, diluyentes, o excipientes farmacéuticamente aceptables. Esta invención también abarca nuevos intermediarios y procesos para la síntesis del compuesto de Formula I.

Como se usa en la presente, los términos "tratar", "tratamiento", o "trata", incluyen prohibir, restringir, reducir, detener, o invertir el progreso o severidad de un

síntoma o trastorno existente.

Como se usa en la presente, el término "paciente" se refiere a un mamífero, tal como un ratón, cobayo, rata, perro, o humano. Se entiende que el paciente preferido es un humano.

Como se usa en la presente, el término "cantidad efectiva" se refiere a la cantidad o dosis del compuesto de la invención, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable la cual, después de la administración de dosis única o múltiple al paciente, proporciona el efecto deseado en el paciente bajo diagnóstico o tratamiento.

Una cantidad efectiva puede ser fácilmente determina por un experto en la técnica usando técnicas conocidas y observando resultados obtenidos bajo circunstancias análogas. Determinando la cantidad efectiva para un paciente, un número de factores son considerados por un experto en la técnica, que incluyen, pero no se limitan a: el tamaño del paciente, edad, y salud general; la enfermedad específica o trastorno involucrado; el grado de, o involucramiento o la severidad del trastorno o enfermedad; la respuesta del paciente individual; el compuesto particular administrado; el modo de administración; las características de biodisponibilidad de la preparación administrada; el régimen de dosis seleccionado; el uso de medicación concomitante; y otras circunstancias relevantes.

El compuesto de Formula I es en general efectivo sobre un amplio intervalo de dosificaciones. Por ejemplo, las dosificaciones por día normalmente caen dentro del intervalo de aproximadamente 0.01 hasta aproximadamente 20 mg/kg de peso corporal. En algunos casos, los niveles de dosificación por debajo del límite inferior del intervalo antes mencionado pueden ser más que adecuados, mientras en otros casos, dosis todavía más grandes pueden ser empleadas con efectos secundarios aceptables, y por lo tanto, el intervalo de dosificación anterior no está propuesto para limitar el alcance de la invención en cualquier forma.

Los compuestos de la invención son formulados preferiblemente, como composiciones farmacéuticas administradas por cualquier ruta lo cual hace al compuesto biodisponible, incluyendo rutas oral y parenteral. Muy preferiblemente, tales composiciones son para administración oral. Tales composiciones farmacéuticas y procesos para preparar las mismas, son bien conocidos en la técnica. (Véase, por ejemplo, Remington: The Science and Practice of Pharmacy, L.V. Allen, Editor, 22nd Edition, Pharmaceutical Press, 2012).

Una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto de la invención puede ser formada, por ejemplo, por reacción de una base libre apropiada del compuesto de la invención y un ácido farmacéuticamente aceptable apropiado en un solvente

adecuado bajo condiciones estándares bien conocidas en la técnica. La formación de tales sales es bien conocida y apreciada en la técnica. Véase, por ejemplo, Gould, P.L., "Salt selection for basic drugs," *International Journal of*
5 *Pharmaceutics*, **33**: 201-217 (1986); Bastin, R.J., et al. "Salt Selection and Optimization Procedures for Pharmaceutical New Chemical Entities," *Organic Process Research and Development*, **4**: 427-435 (2000); y Berge, S.M., et al., "Pharmaceutical Salts," *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **66**: 1-19, (1977).

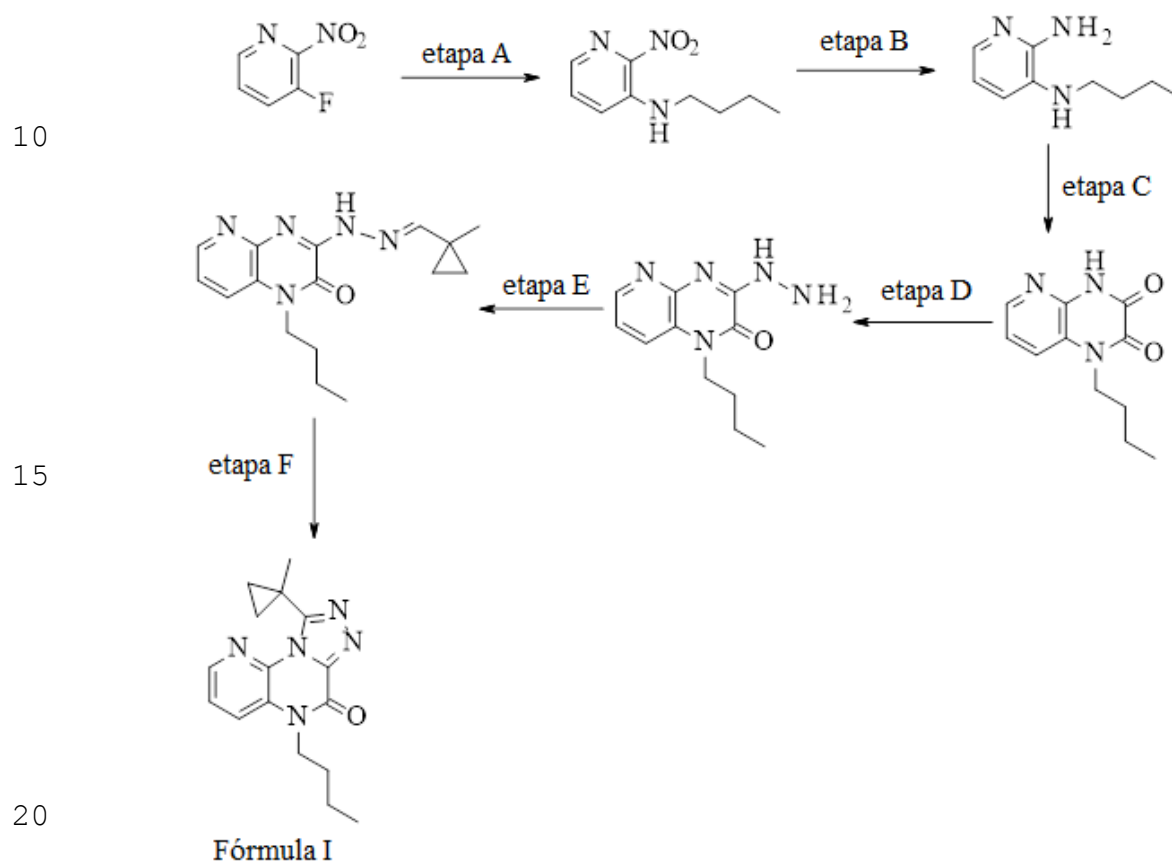
10 Ciertas abreviaturas se definen como sigue: "ACN" se refiere a acetonitrilo; "AcOH" se refiere a ácido glacial acético; "DBU" se refiere a 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno; "DCM" se refiere a diclorometano o cloruro de metileno; "DIPEA" se refiere a N,N-diisopropiletilamina;
15 "DMF" se refiere a N,N-dimetilformamida; "DMSO" se refiere a dimetilsulfóxido; "EDCI" se refiere a 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida; "ES/MS" se refiere a Espectrometría de Masas por Electrorrocío; "EtOAc" se refiere a acetato de etilo; "Et₂O" se refiere a éter dietílico;
20 "EtOH" se refiere a etanol; "HMDS" se refiere a hexametildisilazano; "HOBT" se refiere a hidroxibenzotriazol; "hr" se refiere a hora u horas; "IC₅₀" se refiere a la concentración de un agente que produce 50% de la respuesta inhibidora máxima posible para tal agente; "μmol" se refiere
25 a micromol o micromoles; "min" se refiere a minuto o minutos;

"MeOH" se refiere a metanol o alcohol metílico; "MTBE" se refiere a metil-terc-butil éter; "NiNTA" se refiere a cromatografía con una fase estacionaria de agarosa funcionalizada con ácido nitrilotriacético como quelador;
5 "POCl₃" se refiere a oxicloruro de fósforo; "TA" se refiere a temperatura ambiente; "SNAr" se refiere a sustitución aromática nucleofílica; "TEA" se refiere a trietilamina; "THF" se refiere a tetrahidrofurano; "Tris" se refiere a 2-Amino-2-hidroximetil-propano-1,3-diol; "U/ml" se refiere a
10 unidades por mililitro; "peso" se refiere a peso.

Los compuestos de la presente invención pueden ser preparados por una variedad de procedimientos conocidos por uno de habilidad ordinaria en la técnica, algunos de los cuales son ilustrados en los esquemas de reacción,
15 preparaciones, y ejemplos siguientes. Uno de habilidad ordinaria en la técnica reconoce que las etapas sintéticas específicas para cada una de las rutas descritas pueden ser combinadas en diferentes formas, o en conjunto con etapas a partir de diferentes esquemas de reacción, para preparar
20 compuestos de la invención. Los productos de cada etapa en los esquemas de reacción siguientes pueden ser recuperados por métodos convencionales bien conocidos en la técnica, que incluyen extracción, evaporación, precipitación, cromatografía, filtración, trituración, y cristalización. En
25 los esquemas de reacción siguientes, todos los sustituyentes

a menos que se indique de otro modo, son como se definen previamente. Los reactivos y materiales de partida son fácilmente disponibles para uno de habilidad ordinaria en la técnica. Sin limitar el alcance de la invención, los siguientes esquemas de reacción, preparaciones, y ejemplos, son proporcionados para ilustrar además, la invención.

Esquema de Reacción 1



El Esquema de reacción 1 representa la síntesis del compuesto de Formula I. En el Esquema de reacción 1, etapa A, la reacción S_NAr de 3-fluoro-2-nitropiridina, realizada con varios nucleófilos, está bien asociada en la técnica. Por

ejemplo, aproximadamente 1 equivalente de 3-fluoro-2-nitropiridina se hace reaccionar con aproximadamente 3 equivalentes de butan-1-amina en un solvente polar adecuado tal como EtOH. El producto puede entonces ser aislado
5 utilizando técnicas bien conocidas en el arte, tales como extracción. Por ejemplo, la mezcla de reacción puede ser diluida con agua y extraída con un solvente orgánico polar apropiado tal como EtOAc. Los extractos orgánicos pueden ser combinados, secados sobre sulfato de sodio anhidro,
10 filtrados, y concentrados bajo presión reducida para proporcionar N-butil-2-nitro-piridin-3-amina, el producto de la etapa A, de pureza suficiente para uso en la siguiente etapa sin purificación adicional.

La reducción subsecuente del grupo nitro es bien
15 conocida en la técnica. En el Esquema de reacción 1, etapa B, por ejemplo, aproximadamente 1 equivalente de N-butil-2-nitro-piridin-3-amina, el producto de la etapa A, puede ser hidrogenado en la presencia de un catalizador de metal de transición apropiado, tal como paladio en carbono, en una
20 variedad de solventes orgánicos, tales como MeOH. El producto reducido puede entonces ser aislado utilizando técnicas bien conocidas en el arte, tales como filtración y evaporación. Por ejemplo, la mezcla de reacción cruda puede ser filtrada a través de un lecho de tierra diatomácea, y lo filtrado puede
25 ser concentrado bajo presión reducida para obtener N3-

butilpiridina-2,3-diamina, el producto del Esquema de reacción 1, etapa B, de suficiente pureza para uso en la siguiente etapa sin purificación adicional.

La ciclización al producto diona del Esquema de
5 reacción 1, etapa C, puede ser realizada bajo condiciones de
acilación térmica con oxalato de dietilo en un solvente
orgánico apropiado tal como EtOH. Por ejemplo,
aproximadamente 1 equivalente de N3-butilpiridina-2,3-diamina
puede ser tratado con aproximadamente 5 equivalentes de
10 oxalato de dietilo en un solvente orgánico polar adecuado tal
como EtOH en un tubo sellado a aproximadamente 100 °C. El
producto ciclizado puede entonces ser aislado utilizando
técnicas bien conocidas en el arte, tales como precipitación
y filtración. Por ejemplo, la mezcla de reacción puede ser
15 enfriada a aproximadamente -10 a 0 °C, y lo precipitado
subsecuente puede ser recolectado por filtración y lavado con
éter dietílico para obtener 1-butil-4H-pirido[2,3-b]pirazin-
2,3-diona, el producto del Esquema de reacción 1, etapa C, de
pureza suficiente para uso en la siguiente etapa sin
20 purificación adicional.

La deshidratación de un carbonilo activado con un
nucleófilo tal como hidrazina es bien apreciada en la
técnica. Por ejemplo, aproximadamente 1 equivalente de 1-
butil-4H-pirido[2,3-b]pirazin-2,3-diona, el producto del
25 Esquema de reacción 1, etapa C, puede ser tratado con

aproximadamente 5 equivalentes de monohidrato de hidrazina a aproximadamente 100 °C en un tubo presurizado. El producto puede entonces ser aislado utilizando técnicas bien conocidas en el arte, tales como precipitación y filtración. Por ejemplo, la mezcla de reacción cruda puede ser enfriada a aproximadamente 0 °C, y lo precipitado resultante puede ser recolectado por filtración y lavado con éter dietílico para obtener 1-butil-3-hidrazino-pirido[2,3-b]pirazin-2-ona, el producto del Esquema de reacción 1, etapa D, de pureza suficiente para uso en la siguiente etapa sin purificación adicional.

La alquilación subsecuente del producto hidrazina de la etapa D puede ser realizada bajo varias técnicas de aminación reductiva bien conocidas en el arte. Por ejemplo, aproximadamente 1 equivalente de 1-butil-3-hidrazino-pirido[2,3-b]pirazin-2-ona, el producto del Esquema de reacción 1, etapa D, puede ser tratado con aproximadamente 2 equivalentes de un aldehído alquilo apropiadamente sustituido, tal como 1-metilciclopropancarbaldehído (CAS # 4515-89-3, Enamina LLC, USA), en un solvente alcohólico apropiado tal como MeOH que contiene una cantidad catalítica de un ácido apropiado, tal como AcOH, a aproximadamente TA a reflujo. El producto puede entonces ser aislado utilizando técnicas bien conocidas en el arte, tales como cristalización y filtración. Por ejemplo, la mezcla de reacción cruda puede

ser concentrada bajo presión reducida, y el producto puede ser obtenido por cristalización con un solvente orgánico adecuado tal como hexanos, con filtración subsecuente para recolectar 1-butil-3-[2-[(1-

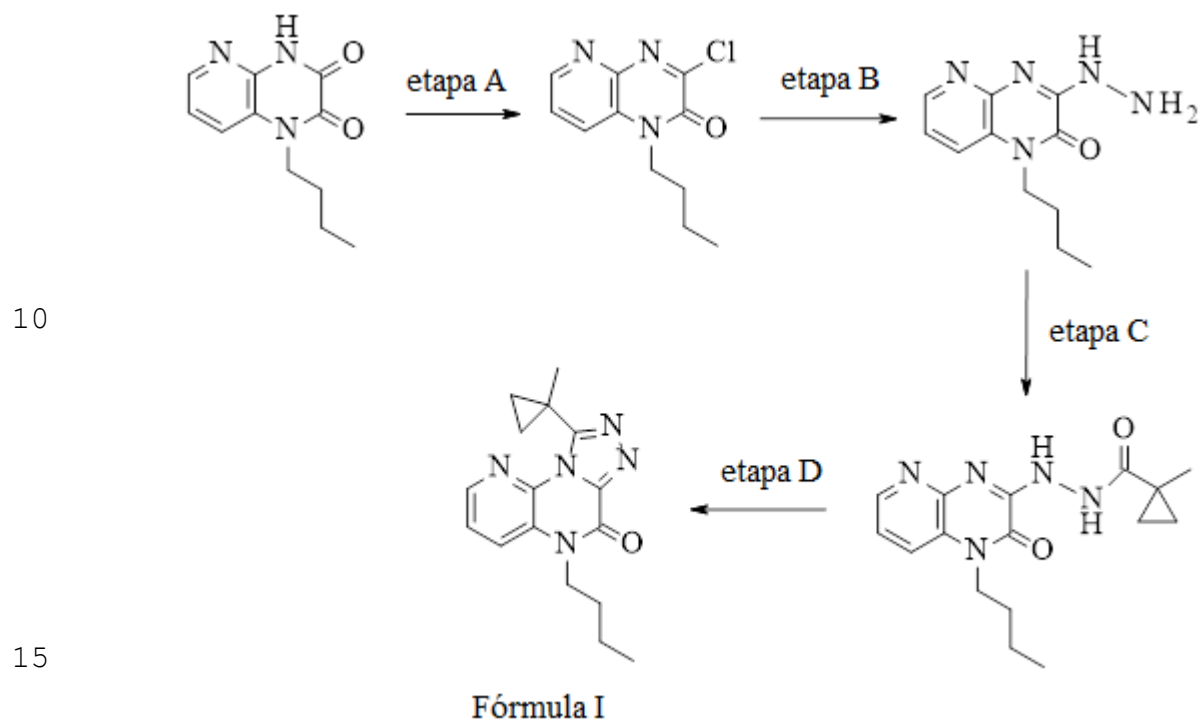
5 metilciclopropil)metilene]hidrazino]pirido[2,3-b]pirazin-2-ona, el producto del Esquema de reacción 1, etapa E.

La preparación del compuesto de Formula 1 puede ser lograda usando una ciclización oxidativa mediada por yodo hipervalente (R. Aggarwal & G. Sumran, *Synthetic*
10 *Communications*, 36: 1873-1876, **2006**) en la 1-butil-3-[2-[(1-metilciclopropil)metilene]hidrazino]pirido[2,3-b]pirazin-2-ona imina sustituida en un solvente orgánico adecuado, tal como DCM, a temperaturas que varían desde 0 °C hasta TA. Por ejemplo, aproximadamente 1 equivalente de 1-butil-3-[2-[(1-
15 metilciclopropil)metilene]hidrazino]pirido[2,3-b]pirazin-2-ona, el producto del Esquema de reacción 1, etapa E, puede ser disuelto en DCM y tratado con aproximadamente 2 equivalentes de diacetato de yodosobenceno (CAS # 3240-34-4) a aproximadamente 0 °C hasta TA. El producto puede entonces
20 ser aislado utilizando técnicas bien conocidas en el arte, tales como extracción y cromatografía. Por ejemplo, la mezcla de reacción puede ser diluida con agua and extraída con DCM. Las capas pueden ser separadas y la capa orgánica lavada secuencialmente con NaHCO₃ acuoso saturado, secadas sobre
25 Na₂SO₄, filtradas, y concentradas bajo presión reducida. El

residuo resultante puede ser purificado por cromatografía sobre sílice, usando un gradiente de una mezcla de solvente apropiada tal como EtOAc y hexanos, para dar el compuesto de Formula I, el producto del Esquema de reacción 1, etapa F.

5

Esquema de reacción 2



El Esquema de reacción 2 representa una síntesis alternativa del compuesto de Formula I. En el Esquema de reacción 2, etapa A, 1-butil-4H-pirido[2,3-b]pirazin-2,3-diona, el producto del Esquema de reacción 1, etapa C, puede ser convertido al compuesto cloro, como es bien conocido en la técnica, usando un agente de cloración adecuado, tal como POCl₃, SOCl₂, cloruro de oxalilo, o PCl₅, en un solvente orgánico apropiado tal como DCM o ACN que contiene una cantidad catalítica de DMF a temperaturas que varían desde TA

20

25

hasta reflujo. Por ejemplo, aproximadamente 1 equivalente de 1-butil-4H-pirido[2,3-b]pirazin-2,3-diona, el producto del Esquema de reacción 1, etapa C, puede ser disuelto en ACN que contiene DMF, y la mezcla de reacción resultante puede
5 ser tratada con aproximadamente 3 equivalentes de cloruro de tionilo y calentada a reflujo por aproximadamente 3 hr. La mezcla de reacción es concentrada bajo presión reducida después de enfriarse a temperatura ambiente para proporcionar el producto del Esquema de reacción 2, etapa A, 1-butil-3-
10 cloro-pirido[2,3-b]pirazin-2-ona, adecuado para uso subsecuente sin purificación adicional.

En el Esquema de reacción 2, etapa B, el desplazamiento del cloruro se puede lograr tratando aproximadamente 1 equivalente de 1-butil-3-cloro-pirido[2,3-
15 b]pirazin-2-ona, el producto del Esquema de reacción 2, etapa A, con una solución de aproximadamente 4 equivalentes de monohidrato de hidrazina acuoso en un solvente aprótico polar tal como THF a TA por aproximadamente 8- 24 hr. El producto puede entonces ser aislado utilizando técnicas bien conocidas
20 en el arte, tales como extracción y destilación azeotrópica. Por ejemplo, la mezcla de reacción puede ser diluida con agua y filtrada, y la torta de filtro puede ser lavada con un solvente orgánico adecuado de alta ebullición tal como tolueno o MTBE, y lo acuoso resultante puede ser removido de
25 la mezcla bifásica por destilación azeotrópica simple en un

evaporador rotatorio bajo presión reducida con un solvente de alta ebullición adecuado, tal como 2-metil-tetrahidrofurano, para dar 1-butil-3-hidrazino-pirido[2,3-b]pirazin-2-ona, el producto del Esquema de reacción 2, etapa B.

5 La acilación del producto de la etapa B puede ser realizada con un ácido carboxílico adecuado usando una variedad de técnicas de acoplamiento de amida bien conocidas en el arte. Por ejemplo, aproximadamente 1 equivalente de 1-butil-3-hidrazino-pirido[2,3-b]pirazin-2-ona, el producto del
10 Esquema de reacción 2, etapa B, puede ser acoplado con aproximadamente 1.5 equivalentes de ácido 1-metilciclopropan-carboxílico en un solvente orgánico adecuado, tal como THF, DMF, o DMSO, que contiene aproximadamente 1.5 equivalentes de EDCI y 1.5 equivalentes de HOBT con adición subsecuente de
15 aproximadamente 3-5 equivalentes de una base orgánica no nucleofílica tal como DIPEA o TEA. El producto puede entonces ser aislado utilizando técnicas bien conocidas en el arte, tales como extracción. Por ejemplo, la mezcla de reacción puede ser neutralizada con un ácido mineral adecuado tal como
20 HCl acuoso diluido con agua, y lavado con un solvente orgánico adecuado tal como DCM, EtOAc, MTBE, o Et₂O. Las capas pueden ser separadas, y la capa acuosa resultante puede ser basificada a pH ~ 7-8 con un sólido alcalino apropiado, tal como K₂CO₃, NaHCO₃, o Na₂SO₃, son extracción subsecuente
25 con un solvente orgánico adecuado tal como DCM, EtOAc, o

Et₂O. Las capas orgánicas pueden ser secuencialmente lavadas con agua, NaCl acuoso saturado, secadas sobre Na₂SO₄, filtradas, y lo filtrado concentrado bajo presión reducida para dar N'-(1-butil-2-oxo-pirido[2,3-b]pirazin-3-il)-1-
5 metil-ciclopropancarbohidrazida, el producto del Esquema de reacción 2, etapa C.

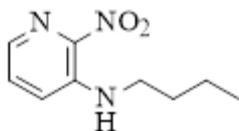
En el Esquema de reacción 2, etapa D, el compuesto de Formula 1 puede ser logrado por ciclización bajo condiciones de microondas o térmicas bien conocidas en el
10 arte. Por ejemplo, aproximadamente 1 equivalente de N'-(1-butil-2-oxo-pirido[2,3-b]pirazin-3-il)-1-metil-ciclopropancarbohidrazida puede ser calentado por aproximadamente 2-12 hora bajo reflujo en un solvente adecuado tal como hexametildisilazano que contiene
15 aproximadamente 0.2 equivalentes de una base orgánica no nucleofílica adecuada tal como 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno. El producto puede entonces ser aislado utilizando técnicas bien conocidas en el arte, tales como dilución, filtración, trituración, y cromatografía. Por ejemplo, la
20 mezcla de reacción puede ser vertida en agua y lo precipitado resultante puede ser recolectado por filtración, con división subsecuente del sólido recolectado entre una mezcla no miscible adecuada de un solvente orgánico, tal como DCM, y agua. La capa orgánica puede ser separada, lavada
25 secuencialmente con agua y NaCl acuoso saturado, secada sobre

Na₂SO₄, filtrada y concentrada bajo presión reducida. El residuo resultante puede ser triturado con un solvente orgánico en ebullición o caliente adecuado, tal como EtOAc, por aproximadamente 1 hr, y el sólido resultante puede ser recolectado por filtración después del enfriamiento. El sólido puede ser además purificado por cromatografía sobre sílice, usando un gradiente de una mezcla de solvente apropiado, tal como EtOAc y DCM, para dar el compuesto de Fórmula I, producto del Esquema de reacción 2, etapa D.

10

Preparación 1

N-butil-2-nitro-piridin-3-amina



15

Esquema de reacción 1, etapa A: Se disolvió 3-fluoro-2-nitropiridina (5.0 g, 35.2 mmol) en EtOH (30 mL) y la mezcla se enfrió a 0 °C en un baño de hielo. Se agregó butan-1-amina (7.7 g, 105.6 mmol) a la mezcla, la mezcla se dejó calentar a TA, y se agitó a TA por 2 hr. La mezcla se diluyó con agua y se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se lavó con NaCl acuoso saturado, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró, y se concentró bajo presión reducida para dar el compuesto del título (6.2 g, 90% de rendimiento) como aceite amarillo, adecuado para uso sin purificación adicional. ES/MS m/z 196.1 (M+1).

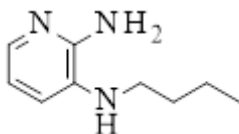
25

Procedimiento Alternativo para la Preparación 1

Se agregó 3-fluoro-2-nitropiridina (92 g, 0.65 mol) en EtOH (552 mL) a ~20-25 °C. La mezcla se enfrió a 0 °C en un baño de hielo. Se agregó butan-1-amina (118.4 g, 1.6187 mol) a ~ 0-5 °C por goteo durante 40 min. Se calentó a ~ 20-25 °C y se agitó por 16 hr. Se agregó agua (800 mL) a la mezcla de reacción, se extrajo con EtOAc (2 x 600 mL), las capas se separaron, y las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (2 x 1L), NaCl acuoso saturado (2 x 500 mL), se secó sobre Na₂SO₄, se filtró, y se concentró bajo presión reducida a 35 °C para obtener el compuesto del título (120.00 g, 95% de rendimiento) como un aceite amarillo profundo, adecuado para uso sin purificación adicional. ES/MS m/z 196.1 (M+1).

Preparación 2

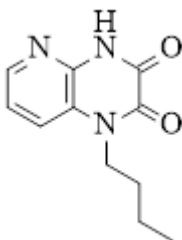
N3-butilpiridina-2,3-diamina



El Esquema de reacción 1, etapa B: Se agregó 5% de Pd/C (3.0 g, 1.4 mmol) a una solución de N-butil-2-nitropiridin-3-amina (6.0 g, 30.7 mmol) se disolvió en MeOH (50 mL) bajo N₂. La mezcla se agitó a TA bajo un balón de H₂ por 8 hr. La mezcla se filtró a través de un parche de tierra diatomácea, se lavó con MeOH, y lo filtrado se concentró bajo

Se agregó N-butil-2-nitro-piridin-3-amina (128.0 g, 0.7 mol) en MeOH (1024 mL) a ~ 20-25 °C. Se agregó 5 % de Pd/c húmedo (64 g, 50% de carga) a ~ 20-25 °C. La mezcla resultante se agitó bajo 3 atmósferas de H₂ a ~ 20-25 °C por 3 hr. La mezcla de reacción se filtró a través de tierra diatomácea, la torta de filtro se lavó con MeOH (5 x 500 mL), y lo filtrado se concentró bajo presión reducida para dar el compuesto del título (101.9 g, 94% de rendimiento) como un sólido negro, adecuado para uso sin purificación adicional. ES/MS m/z 166.1 (M+1).

1-butil-4H-pirido[2,3-b]pirazin-2,3-diona



Esquema de reacción 1, etapa C: Se agregó oxalato de dietilo (20.1 mL, 148.3 mmol) a una mezcla de N3-butilpiridina-2,3-diamina (4.9 g, 29.65 mmol) en EtOH (30 mL). La mezcla se calentó en un tubo sellado a 100 °C por 14 hr. La mezcla de reacción se enfrió a 0 °C y el sólido

resultante se aisló por filtración. El sólido se lavó con Et₂O y se secó bajo vacío a 40 °C para obtener el compuesto del título (3.3 g, 51% de rendimiento) como un sólido de color verde, adecuado para uso sin purificación adicional.

5 ES/MS m/z 219.8 (M+1).

Procedimiento Alternativo para la Preparación 3

Se agregó N3-butilpiridina-2,3-diamina (81.4g, 0.5 mol) en EtOH (550 mL) a ~ 20-25 °C. Se agregó 30 % en peso de NaOEt en EtOH (427.4 g, 1.0 mol) en una porción a ~ 20-25 °C.

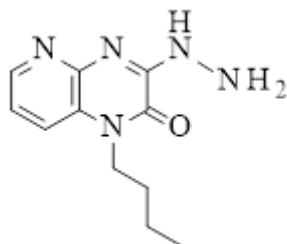
10 Se agregó oxalato de dietilo (87.1g, 0.6 mol) por goteo a ~ 20-30 °C y se agitó a TA por 2.5 hr. La mezcla de reacción se vertió en una mezcla de 0.5 M de HCl/DCM acuoso (1600 mL/1200mL) a ~ 0-10 °C con agitación. Se separaron las dos capas, la capa acuosa se extrajo con DCM (2 x 800 mL), se

15 lavó con agua (2 x 1600 mL), NaCl acuoso saturado (1600 mL), y se secó sobre Na₂SO₄. Se filtró y lo filtrado se concentró bajo presión reducida. El residuo sólido resultante se sometió a suspensión en ACN (200 mL) a ~20-25 °C por 30 min y el sólido resultante se aisló por filtración para dar el

20 compuesto del título (70.0g, 65% de rendimiento) como un sólido verde, adecuado para uso sin purificación adicional. ES/MS m/z 220.1 (M+1).

Preparación 4

1-butyl-3-hidrazino-pirido[2,3-b]pirazin-2-ona

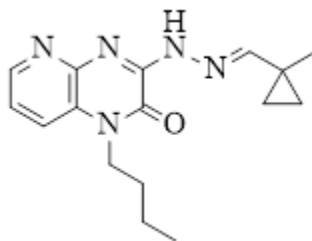


5 Esquema de reacción 1, etapa D: Se agregó monohidrato de hidrazina (3.55 mL, 73.0 mmol) a una mezcla de 1-butil-4H-pirido[2,3-b]pirazin-2,3-diona (3.2 g, 14.6 mmol) en EtOH (20 mL). La mezcla se calentó en un tubo sellado a 100 °C por 14 hr. La mezcla de reacción se enfrió a 0 °C y el
10 sólido se aisló por filtración. El sólido se lavó con Et₂O y se secó bajo vacío a 45 °C para obtener el compuesto del título (2.8 g, 82% de rendimiento) como un sólido de color verde, adecuado para uso sin purificación adicional. ES/MS m/z 234.2 (M+1).

15

Preparación 5

1-butil-3-[2-[(1-metilciclopropil)metilen]hidrazino]pirido[2,3-b]pirazin-2-ona



20

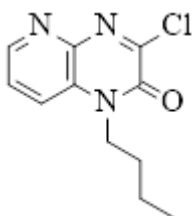
Esquema de reacción 1, etapa E: Se agregó 1-metilciclopropancarbaldehído (1.15 mL, 13.7 mmol) y AcOH (39.3 µL) a una mezcla de 1-butil-3-hidrazino-pirido[2,3-b]pirazin-2-ona (1.6 g, 6.9 mmol) en MeOH (20 mL). La mezcla
25

se agitó a TA por 1 hr. La mezcla se concentró bajo presión reducida y el producto se recrystalizó de hexano (50 mL). El sólido se aisló por filtración y se lavó con hexano para obtener el compuesto del título (1.30 g, 63% de rendimiento) como un sólido negro, adecuado para uso sin purificación adicional. ES/MS m/z 300.2 (M+1).

Preparación 6

1-butil-3-cloro-pirido[2,3-b]pirazin-2-ona

10

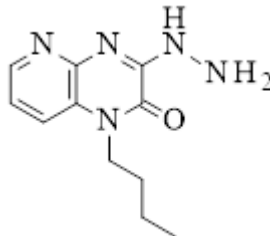


Esquema de reacción 2, etapa A: Se disolvió 1-butyl-4H-pirido[2,3-b]pirazin-2,3-diona (60.8 g, 0.3 mol) en ACN (10 mL/g, 600 mL) a ~ 20-25 °C. Se agregó DMF (4.2 mL) y se agregó SOCl₂ (99.0g, 0.8 mol) en una porción. La mezcla resultante se calentó a reflujo a ~ 75-80 °C por 2.5 hr. La mezcla de reacción se concentró a sequedad bajo presión reducida para dar el compuesto del título crudo (93.0g, >99% de rendimiento) como un sólido negro, adecuado para uso sin purificación adicional. ES/MS m/z 238.1 (M+1).

Preparación 7

1-butyl-3-hidrazino-pirido[2,3-b]pirazin-2-ona

25

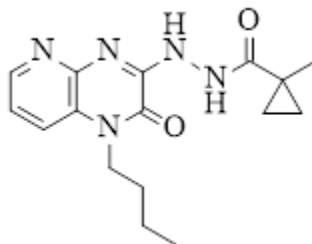


5 Esquema de reacción 2, etapa B: Se agregó THF (900 mL) a una solución acuosa al 85% (% en p/p) de monohidrato de hidrazina (48 g, 1.5 mol,) a TA. Se agregó 1-butil-3-cloropirido[2,3-b]pirazin-2-ona (90.0 g, 0.4 mol) para formar una suspensión y se agitó a TA por 16 hr. Se agregó agua (100
10 mL) a la mezcla de reacción y se agitó por 20 min. Se filtró y se lavó la torta de filtro con agua (2 x 400 mL) seguido por MTBE (2 x 400 mL). El agua se removi6 azeotropiando con 2-metil-THF (3 x 600 mL) bajo presi6n reducida para dar el compuesto del t6tulo (50.0g, 75% de rendimiento) como un
15 s6lido verde, adecuado para uso sin purificaci6n adicional. ES/MS m/z 234.1 (M+1).

Preparaci6n 8

N'-(1-butil-2-oxo-pirido[2,3-b]pirazin-3-il)-1-metil-ciclopropancarbohidrazida

20

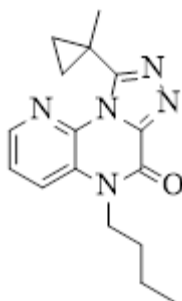


Esquema de reacción 2, etapa C: Se agregó 6cido 1-
25 metilciclopropancarbox6lico (30.9 g, 0.3 mol) a DMF (350 mL)

y TA y la mezcla se enfrió a 0 °C. A ~ -5-0 °C, se agregó EDCI (61.0 g, 0.3 mol) seguido por HOBT (41.75 g, 0.3 mol). A ~ -10-0 °C, se agregó TEA (62.47 g, 0.6 mol) por goteo durante 40 min y la mezcla resultante se agitó a ~ -5-0 °C por 20 min. Se agregó 1-butil-3-hidrazino-pirido[2,3-b]pirazin-2-ona (48.0 g, 0.2 mol,) a ~ 0-5 °C en una porción, se calentó a TA, y se agitó la suspensión resultante por 16 hr. La mezcla de reacción se vertió en HCl acuoso 0.6 M (1600 mL) y se lavó con MTBE (3 x 500 mL); las capas se separaron, la capa de MTBE se desechó, y se agregó DCM (1000 mL) a la capa acuosa. Se ajustó a pH ~ 7-8 con NaHCO₃ sólido (140 g), las capas se separaron, la capa acuosa se extrajo con DCM (3 x 600 mL), las capas orgánicas combinadas se lavaron secuencialmente con agua (3 x 1000 mL) y NaCl acuoso saturado (2 x 1000 mL). Se evaporó bajo presión reducida para dar el compuesto del título (45.0 g, 69% de rendimiento) como un sólido negro, adecuado para uso sin purificación adicional. ES/MS m/z 316.2 (M+1).

Ejemplo 1

5-butil-9-(1-metilciclopropil)pirido[3,2-e][1,2,4]triazolo[4,3-a]pirazin-6(5H)-ona



5

Esquema de reacción 1, etapa F: Se agregó 1-butyl-3-[2-[(1-metilciclopropil)metilen]-hidrazino]pirido[2,3-b]pirazin-2-ona (1.3 g, 4.3 mmol) a DCM (15 mL) y se enfrió la solución a 0 °C en un baño de hielo. Se agregó diacetato de yodosobenceno (2.9 g, 8.7 mmol) a la solución y la mezcla se agitó a TA por 1 hr. La mezcla de reacción se apagó con agua y se extrajo con DCM. Las capas orgánicas se lavaron con NaHCO₃ saturado, se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron, y concentraron bajo presión reducida, y el residuo resultante se purificó por cromatografía sobre sílice, eluyendo con EtOAc:hexanos (3:1), para obtener el compuesto del título (1.1 g, 85% de rendimiento) como un sólido blancuzco. ES/MS m/z 298.2 (M+1).

15

Procedimiento Alternativo para el Ejemplo 1

20

Esquema de reacción 2, etapa D: N'-(1-butyl-2-oxo-pirido[2,3-b]pirazin-3-il)-1-metil-ciclopropancarbohidrazida se sometió a suspensión (45.0 g, 0.1 mol) en HMDS (360 mL) a TA. Se agregó DBU (4.34 g, 28.5 mmol) y se calentó a 125 °C. La solución resultante se agitó por 6hr bajo reflujo. La mezcla de reacción se enfrió a TA, la mezcla se vertió en

25

agua (800 mL), y se filtró y recolectó el sólido resultante. Se disolvió el sólido en DCM (400 mL) / H₂O (100 mL), las capas resultantes se separaron, y la fase orgánica se lavó con NaCl acuoso saturado (100 mL), se secó sobre Na₂SO₄, se
 5 filtró, y lo filtrado se concentró bajo presión reducida para dar un residuo. Se trituró con EtOAc (200 mL) a 40~50 °C por 1 h, y el sólido resultante se aisló (22.0 g, 98% de pureza como se determina por LCMS) por filtración. Se combinó el lote de 22.0 g con otro lote de material (10.0 g, 100% de
 10 pureza como se determina por LCMS) y se purificó además por cromatografía sobre gel de sílice, eluyendo con DCM:EtOAc (1:1), para obtener un residuo después de la evaporación del solvente. El residuo resultante se trituró con EtOAc caliente por 30 min y el sólido resultante se aisló por filtración
 15 para dar el compuesto del título (25.70 g, 42% de rendimiento) como un sólido blanco. ES/MS m/z 298.2 (M+1).

Generación de Proteínas PDE

Las secuencias de nucleótido que codifican los PDE1A (NP_001003683.1), PDE1C (NP_005011.1), PDE5A
 20 (NP_001074.2), PDE7B (NP_061818.1) y PDE9A (NP_002597.1) humanas de longitud completa, se insertaron en el vector pFastBac1 (Invitrogen) con una etiqueta HIS N-termina. Las secuencias de nucleótido que codifican a PDE4D (NP_006194.2) humana de longitud completa y el dominio catalítico (residuo
 25 641-1141) de PDE3A (NP_000912.3) se insertaron en el vector

pFastBac1 (Invitrogen) con una etiqueta HIS C-terminal. Las secuencias de nucleótido que codifican a PDE8A (NP_002596.1) y PDE11A (AAI12394.1) humana de longitud completa, se insertaron en el vector pFastBac1 (Invitrogen) con una
5 etiqueta Flag N-terminal. Las secuencias de nucleótido que codifican a PDE10A (AAD32595.1) humana de longitud completa se insertaron en el vector pFastBac1 (Invitrogen) con una etiqueta Flag-His C-terminal. Las secuencias de nucleótido que codifican a PDE6A (NP_000431.2) y PDE6B (AAH00249.1)
10 humana de longitud completa, son insertadas en el vector pFastBacDual (Invitrogen) con una etiqueta HIS N-terminal y etiqueta Flag N-terminal, respectivamente, para la producción del dímero PDE6A/6B. La generación del baculovirus y la expresión de proteínas en células Sf9 se llevó a cabo de
15 conformidad con el protocolo del sistema de Expresión de Baculovirus Bac-a-Bac (Invitrogen). Las secuencias de nucleótido que codifican a PDE1B (NP_000915.1) y PDE2A (NP_002590.1) humana de longitud completa, se insertaron en pIEX4 (Novagen) con una etiqueta HIS C-terminal, y ambas
20 producciones de proteína en células Sf9 son llevadas a cabo de conformidad con el protocolo del vendedor (Novagen). Las proteínas PDE etiquetadas con His son purificadas usando Ni-NTA agarosa (Qiagen) seguido por cromatografía de exclusión de tamaño en una columna SUPERDEX[®] 200 (GE Healthcare) en
25 amortiguador de almacenamiento (20 mM de Tris-HCl, pH7.5, 150

mM de NaCl, 10% de Glicerol). Las proteínas PDE etiquetadas con Flag que incluyen PDE6A/6B son purificadas usando anti-Flag M2-agarosa (Sigma), después de la purificación a través de la cromatografía en columna NiNTA y eluidas en 5 amortiguador de almacenamiento (50 mM de Tris-HCl, pH7.5, 150 mM de NaCl, 10% de Glicerol, 0.1 mg/ml de péptido Flag). Todas las proteínas purificadas son almacenadas a -80°C en alícuotas pequeñas.

Ensayos de enzima de fosfodiesterasa

10 Todas las actividades de la enzima fosfodiesterasa (PDE) del nucleótido cíclico 3', 5', son medidas con un ensayo de enzima radiométrico a base del sistema de detección SPA (ensayo de proximidad por escintilación). Los compuestos que serán probados son diluidos en dimetilsulfóxido puro 15 (DMSO) usando curvas de respuesta de concentración de diez puntos. La concentración máxima del compuesto en la mezcla de reacción es ya sea 10 o 100 µM. Los compuestos a la concentración apropiada son pre-incubados con cualquiera de las enzimas PDE por 30 minutos antes de que se inicie la 20 reacción por adición del sustrato. Las reacciones se dejan proceder por 60 minutos a temperatura ambiente. Después, las reacciones son detenidas por adición de perllillas de SPA. Las muestras son leídas 12 horas después en un Contador MICROBETA™ TRILUX®. La "IC₅₀" se refiere a la concentración 25 del compuesto que produce 50% de la respuesta inhibidora

máxima posible para tal compuesto. Los valores de IC_{50} son calculados trazando los datos normalizados contra el log [compuesto] y ajustando los datos usando una ecuación logística de cuatro parámetros.

5 Ensayos de enzima de PDE dependiente de Ca^{2+} - calmodulina

PDE1B, PDE1A, y PDE1C son clonados y purificados siguiendo los procedimientos de generación de proteína estándares. El amortiguador de ensayo se preparó para dar una concentración final en el ensayo de 50 mM de Tris-HCl, 50 mM
10 de $MgCl_2$, 4 mM de $CaCl_2$, 0.1% de albúmina de suero bovino y 6 U/ml de Calmodulina en agua, a pH 7.5. La concentración de la enzima final es 0.25, 0.074 y 0.0012 nM, para PDE1A, PDE1B y PDE1C respectivamente. Las reacciones son iniciadas por adición del sustrato, [^3H]cAMP, para dar una concentración
15 final de 47 nM.

Tabla 1: Potencia *in vitro* del Ejemplo 1 contra PDE1A, PDE1B, y PDE1C humana.

Enzimas PDE	IC_{50} (nM) del Ejemplo 1
PDE 1A	10.9 ± 2.6
PDE 1B	16.3 ± 9.1
PDE 1C	2.65 ± 0.9

Los datos en la Tabla 1 demuestran que el compuesto de Ejemplo 1 inhibe la actividad de la enzima humana PDE1A,
20 PDE1B, y PDE1C *in vitro*.

Ensayo de enzima PDE usando [³H]cAMP como sustrato

Las siguientes actividades de fosfodiesterasa son medidas usando [³H]cAMP como sustrato de reacción: PDE3A humana (dominio catalítico), PDE4D humana, PDE7B humana y PDE8A humana. Todas estas enzimas son clonadas y purificadas siguiendo procedimientos estándares. El amortiguador de ensayo se prepara para dar una concentración final en el ensayo de 50 mM de Tris-HCl, 8.3 mM de MgCl₂, 1.7 mM de ácido etilendiaminatetraacético (EDTA) y 0.1% de albúmina de suero Bovino a pH 7.5. Las concentraciones finales de la enzima son 0.008, 0.021, 0.5 y 0.06 nM para PDE3A, PDE4D, PDE7B y PDE8A, respectivamente. Las reacciones son iniciadas por adición del sustrato, [³H]cAMP, para dar una concentración final de 47 nM.

Tabla 2: La potencia *in vitro* del Ejemplo 1 contra PDE3A humana (dominio catalítico), PDE4D, PDE7B y PDE8A.

Enzimas PDE	IC ₅₀ (nM) del Ejemplo 1
PDE3A	>100000
PDE4D	11900 ± 1580
PDE7B	4170
PDE8A	>10000

Ensayos de enzima PDE usando [³H]cGMP como sustrato

Las siguientes actividades de fosfodiesterasa son medidas usando [³H]cGMP como sustrato de reacción: PDE2A

humana, PDE5A humana, PDE6A/6B humana, PDE9A humana, PDE10A humana y PDE11A humana. La forma activa catalítica de PDE6 humana es un dímero compuesto de subunidades α (PDE6A humana) y β (PDE6B humana). El dímero de PDE6A/6B humana se produce por estrategia de expresión y purificación, usando dos etapas de purificación, es decir, cromatografía de NiNTA y anti-FLAG Sepharose. El resto de las enzimas son clonadas y purificadas en casa siguiendo procedimientos estándares. El amortiguador de ensayo se preparó para dar una concentración final en el ensayo de 50 mM de Tris-HCl, 8.3 mM de $MgCl_2$, 1.7 mM de EDTA y 0.1% de albúmina de suero bovino a pH 7.5. Las concentraciones enzimáticas finales son 0.2, 0.002, 5, 1, 0.03 y 0.03 nM para PDE2A humana, PDE5A humana, PDE6AB humana, PDE9A humana, PDE10A humana y PDE11A humana, respectivamente. Las reacciones son iniciadas por adición del sustrato, $[^3H]cGMP$, para dar una concentración final de 80 nM en el caso de ensayos de PDE2A humana, PDE10A humana, PDE5A humana, PDE6AB humana y PDE11A humana, mientras que para PDE9A humana, se usó 20 nM de $[^3H]cGMP$.

Tabla 3: Potencia *in vitro* del Ejemplo 1 contra PDE2A, PDE5A, PDE6AB, PDE9A, PDE10A y PDE11A.

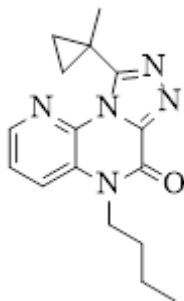
Enzimas PDE	IC ₅₀ (nM) del Ejemplo 1
PDE2A	>10000
PDE5A	3130
PDE 6AB	2460 $\pm$ 247
PDE9A	>10000
PDE10A	9340
PDE11A	389 $\pm$ 179

Los datos en las Tablas 1, 2 y 3, demuestran que el compuesto del Ejemplo 1 es un inhibidor selectivo de PDE1A, PDE1B, y PDE1C humana, con relación a PDE2A, PDE3A, PDE4D, PDE5A, PDE6AB, PDE7B, PDE8A, PDE9A, PDE10A, y PDE11A humana *in vitro*.

REIVINDICACIONES

Habiéndose descrito la invención como antecede, se reclama como propiedad lo contenido en las siguientes

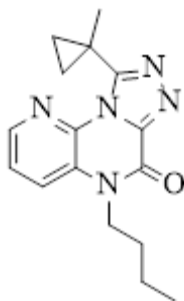
- 5 1. Un compuesto de la Fórmula:



10

o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable.

2. El compuesto de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque es:



15

3. Un método para tratar enfermedad renal crónica
20 en un paciente, caracterizado porque comprende administrar a un paciente en necesidad del mismo, una cantidad efectiva de un compuesto de conformidad con la reivindicación 1, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable.

4. Un método para tratar enfermedad renal
25 diabética en un paciente, caracterizado porque comprende

administrar a un paciente en necesidad del mismo, una cantidad efectiva de un compuesto de conformidad con la reivindicación 1, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable.

5 5. Un compuesto o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable de conformidad con la reivindicación 1, para uso en terapia.

 6. Un compuesto o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable de conformidad con la
10 reivindicación 1, para uso en el tratamiento de enfermedad renal crónica.

 7. Un compuesto o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable de conformidad con la
15 reivindicación 1, para uso en el tratamiento de enfermedad renal diabética.

 8. Una composición farmacéutica, caracterizada porque comprende un compuesto o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable de conformidad con la
20 reivindicación 1, con uno o más portadores, diluyentes, o excipientes farmacéuticamente aceptables.

 9. Un proceso para preparar una composición farmacéutica, caracterizado porque comprende mezclar un compuesto de conformidad con la reivindicación 1, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, con uno o más
25 portadores, diluyentes, o excipientes farmacéuticamente

aceptables.

10. Un método para tratar enfermedad renal crónica en un paciente, caracterizado porque comprende administrar a un paciente en necesidad del mismo, una cantidad efectiva de
5 un compuesto de conformidad con la reivindicación 2.

11. Un método para tratar enfermedad renal diabética en un paciente, caracterizado porque comprende administrar a un paciente en necesidad del mismo, una cantidad efectiva de un compuesto de conformidad con la
10 reivindicación 2.

12. Un compuesto de conformidad con la reivindicación 2 para uso, en el tratamiento de enfermedad renal crónica.

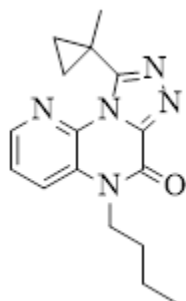
13. Un compuesto de conformidad con la
15 reivindicación 2 para uso, en el tratamiento de enfermedad renal diabética.

14. Una composición farmacéutica, caracterizada porque comprende un compuesto o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable de conformidad con la
20 reivindicación 2, con uno o más portadores, diluyentes, o excipientes farmacéuticamente aceptables.

RESUMEN DE LA INVENCIÓN

La presente invención se refiere a un compuesto de
Fórmula I:

5

**Fórmula I**

o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable,
10 para uso como un inhibidor de PDE1 humana.

15

DERIVADO DE TRIAZOLOPIRAZINONA ÚTIL COMO UN INHIBIDOR DE PDE1
HUMANA

CAMPO DE LA INVENCION

5 La presente invención se refiere a un cierto
inhibidor de PDE1 humana, a composiciones farmacéuticas que
comprenden el compuesto, a métodos para usar el compuesto
para tratar trastornos fisiológicos, y a intermediarios y
procesos útiles en la síntesis del compuesto.

10 **ANTECEDENTES DE LA INVENCION**

Las fosfodiesterasas (PDEs, por sus siglas en
inglés), son enzimas que regulan los niveles celulares de
cAMP y cGMP controlando la velocidad en la cual estos
nucleótidos cíclicos son hidrolizados. La PDE1, una PDE
15 dependiente de calcio y calmodulina, es una de al menos 11
familias de PDE conocidas. La PDE1 es expresada en muchos
tejidos, incluyendo el cerebro, corazón, pulmón, riñón, y
músculo liso. En adición, la PDE1 está comprendida de una
familia de tres isoformas conocidas, PDE1A, PDE1B, y PDE1C.

20 Los pacientes que sufren de diabetes a menudo
desarrollan una forma de enfermedad renal crónica referida
como enfermedad renal diabética (o nefropatía diabética). Se
ha estimado que la enfermedad renal diabética puede afectar
tanto como 40 por ciento de pacientes diabéticos. Las opciones
25 de tratamiento para enfermedad renal diabética están

limitadas e incluyen el uso de medicaciones a presión sanguínea inferior, manejo de niveles de glucosa en sangre, dieta, y peso, e implementación de la actividad física regular. De este modo, existe una necesidad de elecciones de
5 tratamiento adicionales para pacientes que sufren de enfermedad renal crónica, particularmente enfermedad renal crónica.

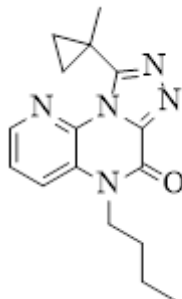
La Patente Estadounidense No. 8,299,080, describe ciertos derivados de quinoxalina que tienen actividad de
10 inhibición de PDE9 útiles para tratar varios trastornos tales como disuria e hipertensión. En adición, la Patente Europea No. 0 040 401, describe cierta actividad anti-hipertensiva de triazoloquinoxalin-4-onas sustituidas.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

15 La presente invención proporciona un cierto compuesto novedoso que es un inhibidor de PDE1 humana. En adición, la presente invención proporciona un cierto compuesto novedoso que es un inhibidor selectivo de PDE1A, PDE1B, y PDE1C humana, con relación a otras PDEs humanas,
20 tales como PDE2A, PDE3A, PDE4D, PDE5A, PDE6AB, PDE7B, PDE8A, PDE9A, PDE10A, y PDE11A. Además, la presente invención proporciona un cierto compuesto novedoso que puede tener efectos antihipertensivos y también puede mejorar el flujo sanguíneo renal. En adición, el compuesto de la presente
25 invención puede reducir la fibrosis renal.

Por consiguiente, la presente invención proporciona un compuesto de Fórmula I:

5

**Fórmula I**

o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable.

La presente invención también proporciona un método
10 para tratar enfermedad renal crónica en un paciente, que
comprende administrar a un paciente en necesidad de tal
tratamiento una cantidad efectiva de un compuesto de Fórmula
I.

La presente invención también proporciona un método
15 para tratar enfermedad renal diabética en un paciente, que
comprende administrar a un paciente en necesidad de tal
tratamiento una cantidad efectiva de un compuesto de Fórmula
I.

La presente invención también proporciona un método
20 para tratar hipertensión en un paciente, que comprende
administrar a un paciente en necesidad de tal tratamiento una
cantidad efectiva de un compuesto de Fórmula I.

En adición, la invención proporciona un compuesto
de Fórmula I para uso en terapia. La invención además
25 proporciona un compuesto de Fórmula I para uso en el

tratamiento de enfermedad renal crónica. En adición, la invención proporciona un compuesto de Fórmula I para uso en el tratamiento de enfermedad renal diabética. En adición, la invención proporciona un compuesto de Fórmula I para uso en el tratamiento de hipertensión. Adicionalmente, la invención proporciona el uso de un compuesto de Fórmula I para la manufactura de un medicamento para el tratamiento de enfermedad renal crónica. Adicionalmente, la invención proporciona el uso de un compuesto de Fórmula I para la manufactura de un medicamento para el tratamiento de enfermedad renal diabética. La invención además proporciona el uso de un compuesto de Fórmula I para la manufactura de un medicamento para el tratamiento de hipertensión.

La invención además proporciona una composición farmacéutica, que comprende un compuesto de Fórmula I con uno o más portadores, diluyentes, o excipientes farmacéuticamente aceptables. La invención además proporciona un proceso para preparar una composición farmacéutica, que comprende mezclar un compuesto de Fórmula I con uno o más portadores, diluyentes, o excipientes farmacéuticamente aceptables. Esta invención también abarca nuevos intermediarios y procesos para la síntesis del compuesto de Formula I.

Como se usa en la presente, los términos "tratar", "tratamiento", o "trata", incluyen prohibir, restringir, reducir, detener, o invertir el progreso o severidad de un

síntoma o trastorno existente.

Como se usa en la presente, el término "paciente" se refiere a un mamífero, tal como un ratón, cobayo, rata, perro, o humano. Se entiende que el paciente preferido es un humano.

Como se usa en la presente, el término "cantidad efectiva" se refiere a la cantidad o dosis del compuesto de la invención, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable la cual, después de la administración de dosis única o múltiple al paciente, proporciona el efecto deseado en el paciente bajo diagnóstico o tratamiento.

Una cantidad efectiva puede ser fácilmente determina por un experto en la técnica usando técnicas conocidas y observando resultados obtenidos bajo circunstancias análogas. Determinando la cantidad efectiva para un paciente, un número de factores son considerados por un experto en la técnica, que incluyen, pero no se limitan a: el tamaño del paciente, edad, y salud general; la enfermedad específica o trastorno involucrado; el grado de, o involucramiento o la severidad del trastorno o enfermedad; la respuesta del paciente individual; el compuesto particular administrado; el modo de administración; las características de biodisponibilidad de la preparación administrada; el régimen de dosis seleccionado; el uso de medicación concomitante; y otras circunstancias relevantes.

El compuesto de Formula I es en general efectivo sobre un amplio intervalo de dosificaciones. Por ejemplo, las dosificaciones por día normalmente caen dentro del intervalo de aproximadamente 0.01 hasta aproximadamente 20 mg/kg de peso corporal. En algunos casos, los niveles de dosificación por debajo del límite inferior del intervalo antes mencionado pueden ser más que adecuados, mientras en otros casos, dosis todavía más grandes pueden ser empleadas con efectos secundarios aceptables, y por lo tanto, el intervalo de dosificación anterior no está propuesto para limitar el alcance de la invención en cualquier forma.

Los compuestos de la invención son formulados preferiblemente, como composiciones farmacéuticas administradas por cualquier ruta lo cual hace al compuesto biodisponible, incluyendo rutas oral y parenteral. Muy preferiblemente, tales composiciones son para administración oral. Tales composiciones farmacéuticas y procesos para preparar las mismas, son bien conocidos en la técnica. (Véase, por ejemplo, Remington: The Science and Practice of Pharmacy, L.V. Allen, Editor, 22nd Edition, Pharmaceutical Press, 2012).

Una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto de la invención puede ser formada, por ejemplo, por reacción de una base libre apropiada del compuesto de la invención y un ácido farmacéuticamente aceptable apropiado en un solvente

adecuado bajo condiciones estándares bien conocidas en la técnica. La formación de tales sales es bien conocida y apreciada en la técnica. Véase, por ejemplo, Gould, P.L., "Salt selection for basic drugs," *International Journal of*
 5 *Pharmaceutics*, **33**: 201-217 (1986); Bastin, R.J., et al. "Salt Selection and Optimization Procedures for Pharmaceutical New Chemical Entities," *Organic Process Research and Development*, **4**: 427-435 (2000); y Berge, S.M., et al., "Pharmaceutical Salts," *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **66**: 1-19, (1977).

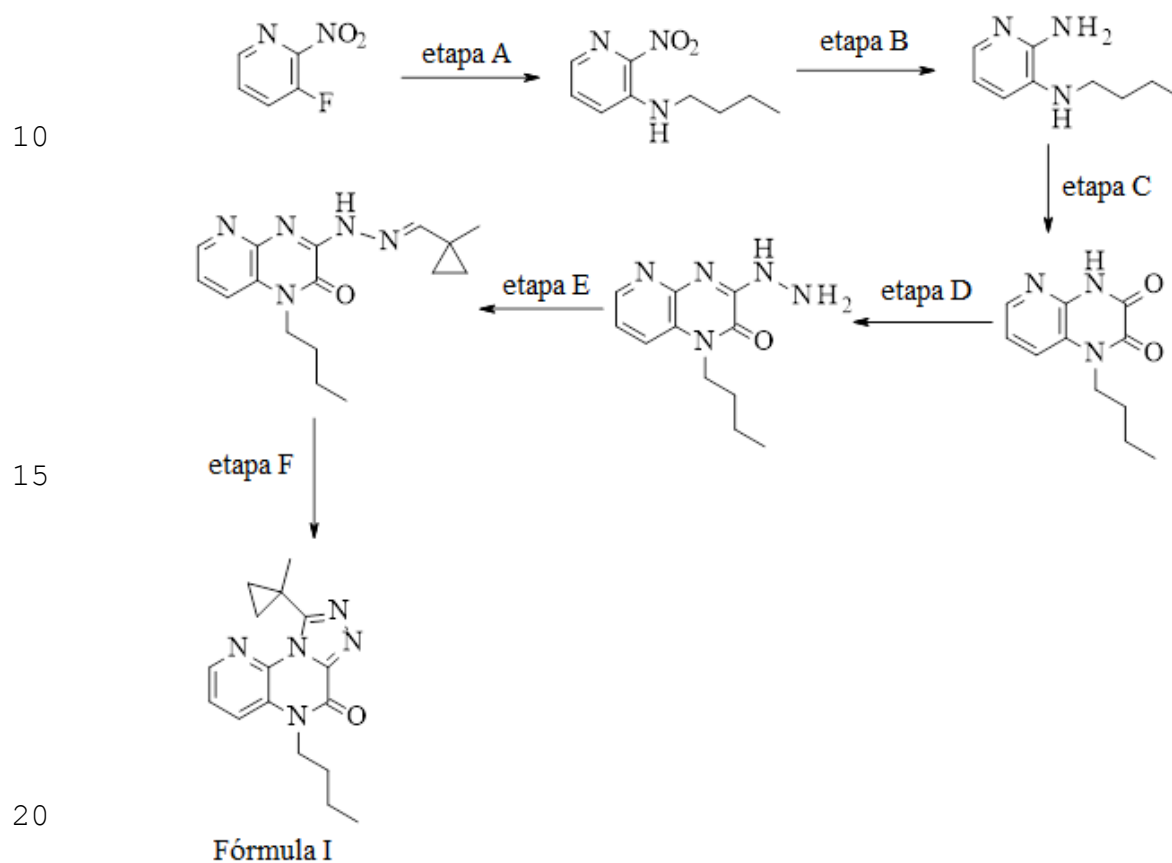
10 Ciertas abreviaturas se definen como sigue: "ACN" se refiere a acetonitrilo; "AcOH" se refiere a ácido glacial acético; "DBU" se refiere a 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno; "DCM" se refiere a diclorometano o cloruro de metileno; "DIPEA" se refiere a N,N-diisopropiletilamina;
 15 "DMF" se refiere a N,N-dimetilformamida; "DMSO" se refiere a dimetilsulfóxido; "EDCI" se refiere a 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida; "ES/MS" se refiere a Espectrometría de Masas por Electrorrocío; "EtOAc" se refiere a acetato de etilo; "Et₂O" se refiere a éter dietílico;
 20 "EtOH" se refiere a etanol; "HMDS" se refiere a hexametildisilazano; "HOBT" se refiere a hidroxibenzotriazol; "hr" se refiere a hora u horas; "IC₅₀" se refiere a la concentración de un agente que produce 50% de la respuesta inhibidora máxima posible para tal agente; "μmol" se refiere
 25 a micromol o micromoles; "min" se refiere a minuto o minutos;

"MeOH" se refiere a metanol o alcohol metílico; "MTBE" se refiere a metil-terc-butil éter; "NiNTA" se refiere a cromatografía con una fase estacionaria de agarosa funcionalizada con ácido nitrilotriacético como quelador;
5 "POCl₃" se refiere a oxicloruro de fósforo; "TA" se refiere a temperatura ambiente; "SNAr" se refiere a sustitución aromática nucleofílica; "TEA" se refiere a trietilamina; "THF" se refiere a tetrahidrofurano; "Tris" se refiere a 2-Amino-2-hidroxi-metil-propano-1,3-diol; "U/ml" se refiere a
10 unidades por mililitro; "peso" se refiere a peso.

Los compuestos de la presente invención pueden ser preparados por una variedad de procedimientos conocidos por uno de habilidad ordinaria en la técnica, algunos de los cuales son ilustrados en los esquemas de reacción,
15 preparaciones, y ejemplos siguientes. Uno de habilidad ordinaria en la técnica reconoce que las etapas sintéticas específicas para cada una de las rutas descritas pueden ser combinadas en diferentes formas, o en conjunto con etapas a partir de diferentes esquemas de reacción, para preparar
20 compuestos de la invención. Los productos de cada etapa en los esquemas de reacción siguientes pueden ser recuperados por métodos convencionales bien conocidos en la técnica, que incluyen extracción, evaporación, precipitación, cromatografía, filtración, trituración, y cristalización. En
25 los esquemas de reacción siguientes, todos los sustituyentes

a menos que se indique de otro modo, son como se definen previamente. Los reactivos y materiales de partida son fácilmente disponibles para uno de habilidad ordinaria en la técnica. Sin limitar el alcance de la invención, los siguientes esquemas de reacción, preparaciones, y ejemplos, son proporcionados para ilustrar además, la invención.

Esquema de Reacción 1



El Esquema de reacción 1 representa la síntesis del compuesto de Formula I. En el Esquema de reacción 1, etapa A, la reacción S_NAr de 3-fluoro-2-nitropiridina, realizada con varios nucleófilos, está bien asociada en la técnica. Por

ejemplo, aproximadamente 1 equivalente de 3-fluoro-2-nitropiridina se hace reaccionar con aproximadamente 3 equivalentes de butan-1-amina en un solvente polar adecuado tal como EtOH. El producto puede entonces ser aislado
5 utilizando técnicas bien conocidas en el arte, tales como extracción. Por ejemplo, la mezcla de reacción puede ser diluida con agua y extraída con un solvente orgánico polar apropiado tal como EtOAc. Los extractos orgánicos pueden ser combinados, secados sobre sulfato de sodio anhidro,
10 filtrados, y concentrados bajo presión reducida para proporcionar N-butil-2-nitro-piridin-3-amina, el producto de la etapa A, de pureza suficiente para uso en la siguiente etapa sin purificación adicional.

La reducción subsecuente del grupo nitro es bien
15 conocida en la técnica. En el Esquema de reacción 1, etapa B, por ejemplo, aproximadamente 1 equivalente de N-butil-2-nitro-piridin-3-amina, el producto de la etapa A, puede ser hidrogenado en la presencia de un catalizador de metal de transición apropiado, tal como paladio en carbono, en una
20 variedad de solventes orgánicos, tales como MeOH. El producto reducido puede entonces ser aislado utilizando técnicas bien conocidas en el arte, tales como filtración y evaporación. Por ejemplo, la mezcla de reacción cruda puede ser filtrada a través de un lecho de tierra diatomácea, y lo filtrado puede
25 ser concentrado bajo presión reducida para obtener N3-

butilpiridina-2,3-diamina, el producto del Esquema de reacción 1, etapa B, de suficiente pureza para uso en la siguiente etapa sin purificación adicional.

La ciclización al producto diona del Esquema de
5 reacción 1, etapa C, puede ser realizada bajo condiciones de
acilación térmica con oxalato de dietilo en un solvente
orgánico apropiado tal como EtOH. Por ejemplo,
aproximadamente 1 equivalente de N3-butilpiridina-2,3-diamina
puede ser tratado con aproximadamente 5 equivalentes de
10 oxalato de dietilo en un solvente orgánico polar adecuado tal
como EtOH en un tubo sellado a aproximadamente 100 °C. El
producto ciclizado puede entonces ser aislado utilizando
técnicas bien conocidas en el arte, tales como precipitación
y filtración. Por ejemplo, la mezcla de reacción puede ser
15 enfriada a aproximadamente -10 a 0 °C, y lo precipitado
subsecuente puede ser recolectado por filtración y lavado con
éter dietílico para obtener 1-butil-4H-pirido[2,3-b]pirazin-
2,3-diona, el producto del Esquema de reacción 1, etapa C, de
pureza suficiente para uso en la siguiente etapa sin
20 purificación adicional.

La deshidratación de un carbonilo activado con un
nucleófilo tal como hidrazina es bien apreciada en la
técnica. Por ejemplo, aproximadamente 1 equivalente de 1-
butil-4H-pirido[2,3-b]pirazin-2,3-diona, el producto del
25 Esquema de reacción 1, etapa C, puede ser tratado con

aproximadamente 5 equivalentes de monohidrato de hidrazina a aproximadamente 100 °C en un tubo presurizado. El producto puede entonces ser aislado utilizando técnicas bien conocidas en el arte, tales como precipitación y filtración. Por ejemplo, la mezcla de reacción cruda puede ser enfriada a aproximadamente 0 °C, y lo precipitado resultante puede ser recolectado por filtración y lavado con éter dietílico para obtener 1-butil-3-hidrazino-pirido[2,3-b]pirazin-2-ona, el producto del Esquema de reacción 1, etapa D, de pureza suficiente para uso en la siguiente etapa sin purificación adicional.

La alquilación subsecuente del producto hidrazina de la etapa D puede ser realizada bajo varias técnicas de aminación reductiva bien conocidas en el arte. Por ejemplo, aproximadamente 1 equivalente de 1-butil-3-hidrazino-pirido[2,3-b]pirazin-2-ona, el producto del Esquema de reacción 1, etapa D, puede ser tratado con aproximadamente 2 equivalentes de un aldehído alquilo apropiadamente sustituido, tal como 1-metilciclopropancarbaldehído (CAS # 4515-89-3, Enamina LLC, USA), en un solvente alcohólico apropiado tal como MeOH que contiene una cantidad catalítica de un ácido apropiado, tal como AcOH, a aproximadamente TA a reflujo. El producto puede entonces ser aislado utilizando técnicas bien conocidas en el arte, tales como cristalización y filtración. Por ejemplo, la mezcla de reacción cruda puede

ser concentrada bajo presión reducida, y el producto puede ser obtenido por cristalización con un solvente orgánico adecuado tal como hexanos, con filtración subsecuente para recolectar 1-butil-3-[2-[(1-

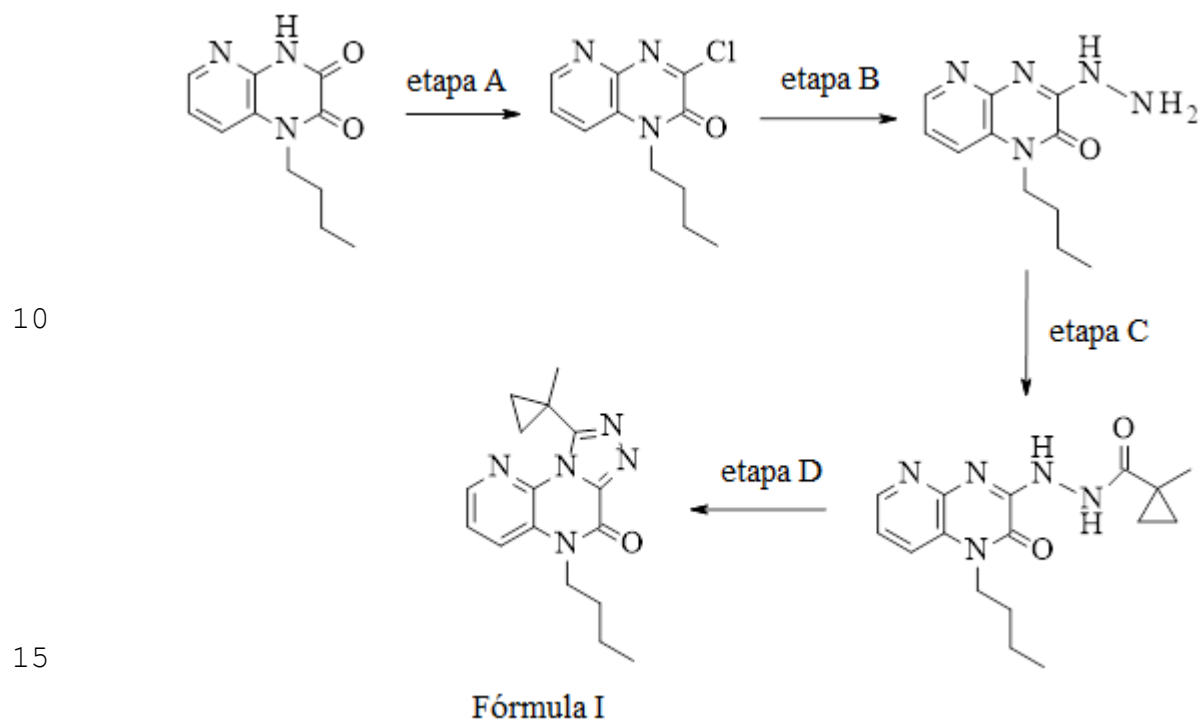
5 metilciclopropil)metilene]hidrazino]pirido[2,3-b]pirazin-2-ona, el producto del Esquema de reacción 1, etapa E.

La preparación del compuesto de Formula 1 puede ser lograda usando una ciclización oxidativa mediada por yodo hipervalente (R. Aggarwal & G. Sumran, *Synthetic*
10 *Communications*, 36: 1873-1876, **2006**) en la 1-butil-3-[2-[(1-metilciclopropil)metilene]hidrazino]pirido[2,3-b]pirazin-2-ona imina sustituida en un solvente orgánico adecuado, tal como DCM, a temperaturas que varían desde 0 °C hasta TA. Por ejemplo, aproximadamente 1 equivalente de 1-butil-3-[2-[(1-
15 metilciclopropil)metilene]hidrazino]pirido[2,3-b]pirazin-2-ona, el producto del Esquema de reacción 1, etapa E, puede ser disuelto en DCM y tratado con aproximadamente 2 equivalentes de diacetato de yodosobenceno (CAS # 3240-34-4) a aproximadamente 0 °C hasta TA. El producto puede entonces
20 ser aislado utilizando técnicas bien conocidas en el arte, tales como extracción y cromatografía. Por ejemplo, la mezcla de reacción puede ser diluida con agua and extraída con DCM. Las capas pueden ser separadas y la capa orgánica lavada secuencialmente con NaHCO₃ acuoso saturado, secadas sobre
25 Na₂SO₄, filtradas, y concentradas bajo presión reducida. El

residuo resultante puede ser purificado por cromatografía sobre sílice, usando un gradiente de una mezcla de solvente apropiada tal como EtOAc y hexanos, para dar el compuesto de Formula I, el producto del Esquema de reacción 1, etapa F.

5

Esquema de reacción 2



El Esquema de reacción 2 representa una síntesis alternativa del compuesto de Formula I. En el Esquema de reacción 2, etapa A, 1-butil-4H-pirido[2,3-b]pirazin-2,3-diona, el producto del Esquema de reacción 1, etapa C, puede ser convertido al compuesto cloro, como es bien conocido en la técnica, usando un agente de cloración adecuado, tal como POCl₃, SOCl₂, cloruro de oxalilo, o PCl₅, en un solvente orgánico apropiado tal como DCM o ACN que contiene una cantidad catalítica de DMF a temperaturas que varían desde TA

20

25

hasta reflujo. Por ejemplo, aproximadamente 1 equivalente de 1-butil-4H-pirido[2,3-b]pirazin-2,3-diona, el producto del Esquema de reacción 1, etapa C, puede ser disuelto en ACN que contiene DMF, y la mezcla de reacción resultante puede
5 ser tratada con aproximadamente 3 equivalentes de cloruro de tionilo y calentada a reflujo por aproximadamente 3 hr. La mezcla de reacción es concentrada bajo presión reducida después de enfriarse a temperatura ambiente para proporcionar el producto del Esquema de reacción 2, etapa A, 1-butil-3-
10 cloro-pirido[2,3-b]pirazin-2-ona, adecuado para uso subsecuente sin purificación adicional.

En el Esquema de reacción 2, etapa B, el desplazamiento del cloruro se puede lograr tratando aproximadamente 1 equivalente de 1-butil-3-cloro-pirido[2,3-
15 b]pirazin-2-ona, el producto del Esquema de reacción 2, etapa A, con una solución de aproximadamente 4 equivalentes de monohidrato de hidrazina acuoso en un solvente aprótico polar tal como THF a TA por aproximadamente 8- 24 hr. El producto puede entonces ser aislado utilizando técnicas bien conocidas
20 en el arte, tales como extracción y destilación azeotrópica. Por ejemplo, la mezcla de reacción puede ser diluida con agua y filtrada, y la torta de filtro puede ser lavada con un solvente orgánico adecuado de alta ebullición tal como tolueno o MTBE, y lo acuoso resultante puede ser removido de
25 la mezcla bifásica por destilación azeotrópica simple en un

evaporador rotatorio bajo presión reducida con un solvente de alta ebullición adecuado, tal como 2-metil-tetrahidrofurano, para dar 1-butil-3-hidrazino-pirido[2,3-b]pirazin-2-ona, el producto del Esquema de reacción 2, etapa B.

5 La acilación del producto de la etapa B puede ser realizada con un ácido carboxílico adecuado usando una variedad de técnicas de acoplamiento de amida bien conocidas en el arte. Por ejemplo, aproximadamente 1 equivalente de 1-butil-3-hidrazino-pirido[2,3-b]pirazin-2-ona, el producto del
10 Esquema de reacción 2, etapa B, puede ser acoplado con aproximadamente 1.5 equivalentes de ácido 1-metilciclopropan-carboxílico en un solvente orgánico adecuado, tal como THF, DMF, o DMSO, que contiene aproximadamente 1.5 equivalentes de EDCI y 1.5 equivalentes de HOBT con adición subsecuente de
15 aproximadamente 3-5 equivalentes de una base orgánica no nucleofílica tal como DIPEA o TEA. El producto puede entonces ser aislado utilizando técnicas bien conocidas en el arte, tales como extracción. Por ejemplo, la mezcla de reacción puede ser neutralizada con un ácido mineral adecuado tal como
20 HCl acuoso diluido con agua, y lavado con un solvente orgánico adecuado tal como DCM, EtOAc, MTBE, o Et₂O. Las capas pueden ser separadas, y la capa acuosa resultante puede ser basificada a pH ~ 7-8 con un sólido alcalino apropiado, tal como K₂CO₃, NaHCO₃, o Na₂SO₃, son extracción subsecuente
25 con un solvente orgánico adecuado tal como DCM, EtOAc, o

Et₂O. Las capas orgánicas pueden ser secuencialmente lavadas con agua, NaCl acuoso saturado, secadas sobre Na₂SO₄, filtradas, y lo filtrado concentrado bajo presión reducida para dar N'-(1-butil-2-oxo-pirido[2,3-b]pirazin-3-il)-1-
5 metil-ciclopropancarbohidrazida, el producto del Esquema de reacción 2, etapa C.

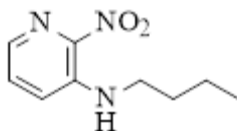
En el Esquema de reacción 2, etapa D, el compuesto de Formula 1 puede ser logrado por ciclización bajo condiciones de microondas o térmicas bien conocidas en el
10 arte. Por ejemplo, aproximadamente 1 equivalente de N'-(1-butil-2-oxo-pirido[2,3-b]pirazin-3-il)-1-metil-ciclopropancarbohidrazida puede ser calentado por aproximadamente 2-12 hora bajo reflujo en un solvente adecuado tal como hexametildisilazano que contiene
15 aproximadamente 0.2 equivalentes de una base orgánica no nucleofílica adecuada tal como 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno. El producto puede entonces ser aislado utilizando técnicas bien conocidas en el arte, tales como dilución, filtración, trituración, y cromatografía. Por ejemplo, la
20 mezcla de reacción puede ser vertida en agua y lo precipitado resultante puede ser recolectado por filtración, con división subsecuente del sólido recolectado entre una mezcla no miscible adecuada de un solvente orgánico, tal como DCM, y agua. La capa orgánica puede ser separada, lavada
25 secuencialmente con agua y NaCl acuoso saturado, secada sobre

Na₂SO₄, filtrada y concentrada bajo presión reducida. El residuo resultante puede ser triturado con un solvente orgánico en ebullición o caliente adecuado, tal como EtOAc, por aproximadamente 1 hr, y el sólido resultante puede ser recolectado por filtración después del enfriamiento. El sólido puede ser además purificado por cromatografía sobre sílice, usando un gradiente de una mezcla de solvente apropiado, tal como EtOAc y DCM, para dar el compuesto de Fórmula I, producto del Esquema de reacción 2, etapa D.

10

Preparación 1

N-butyl-2-nitro-piridin-3-amina



15

Esquema de reacción 1, etapa A: Se disolvió 3-fluoro-2-nitropiridina (5.0 g, 35.2 mmol) en EtOH (30 mL) y la mezcla se enfrió a 0 °C en un baño de hielo. Se agregó butan-1-amina (7.7 g, 105.6 mmol) a la mezcla, la mezcla se dejó calentar a TA, y se agitó a TA por 2 hr. La mezcla se diluyó con agua y se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se lavó con NaCl acuoso saturado, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró, y se concentró bajo presión reducida para dar el compuesto del título (6.2 g, 90% de rendimiento) como aceite amarillo, adecuado para uso sin purificación adicional. ES/MS m/z 196.1 (M+1).

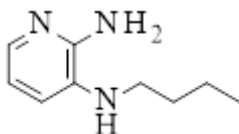
25

Procedimiento Alternativo para la Preparación 1

Se agregó 3-fluoro-2-nitropiridina (92 g, 0.65 mol) en EtOH (552 mL) a ~20-25 °C. La mezcla se enfrió a 0 °C en un baño de hielo. Se agregó butan-1-amina (118.4 g, 1.6187 mol) a ~ 0-5 °C por goteo durante 40 min. Se calentó a ~ 20-25 °C y se agitó por 16 hr. Se agregó agua (800 mL) a la mezcla de reacción, se extrajo con EtOAc (2 x 600 mL), las capas se separaron, y las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (2 x 1L), NaCl acuoso saturado (2 x 500 mL), se secó sobre Na₂SO₄, se filtró, y se concentró bajo presión reducida a 35 °C para obtener el compuesto del título (120.00 g, 95% de rendimiento) como un aceite amarillo profundo, adecuado para uso sin purificación adicional. ES/MS m/z 196.1 (M+1).

Preparación 2

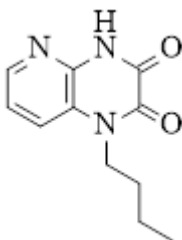
N3-butilpiridina-2,3-diamina



El Esquema de reacción 1, etapa B: Se agregó 5% de Pd/C (3.0 g, 1.4 mmol) a una solución de N-butil-2-nitropiridin-3-amina (6.0 g, 30.7 mmol) se disolvió en MeOH (50 mL) bajo N₂. La mezcla se agitó a TA bajo un balón de H₂ por 8 hr. La mezcla se filtró a través de un parche de tierra diatomácea, se lavó con MeOH, y lo filtrado se concentró bajo

Se agregó N-butil-2-nitro-piridin-3-amina (128.0 g, 0.7 mol) en MeOH (1024 mL) a ~ 20-25 °C. Se agregó 5 % de Pd/c húmedo (64 g, 50% de carga) a ~ 20-25 °C. La mezcla resultante se agitó bajo 3 atmósferas de H₂ a ~ 20-25 °C por 3 hr. La mezcla de reacción se filtró a través de tierra diatomácea, la torta de filtro se lavó con MeOH (5 x 500 mL), y lo filtrado se concentró bajo presión reducida para dar el compuesto del título (101.9 g, 94% de rendimiento) como un sólido negro, adecuado para uso sin purificación adicional. ES/MS m/z 166.1 (M+1).

1-butil-4H-pirido[2,3-b]pirazin-2,3-diona



Esquema de reacción 1, etapa C: Se agregó oxalato de dietilo (20.1 mL, 148.3 mmol) a una mezcla de N3-butilpiridina-2,3-diamina (4.9 g, 29.65 mmol) en EtOH (30 mL). La mezcla se calentó en un tubo sellado a 100 °C por 14 hr. La mezcla de reacción se enfrió a 0 °C y el sólido

resultante se aisló por filtración. El sólido se lavó con Et₂O y se secó bajo vacío a 40 °C para obtener el compuesto del título (3.3 g, 51% de rendimiento) como un sólido de color verde, adecuado para uso sin purificación adicional.

5 ES/MS m/z 219.8 (M+1).

Procedimiento Alternativo para la Preparación 3

Se agregó N3-butilpiridina-2,3-diamina (81.4g, 0.5 mol) en EtOH (550 mL) a ~ 20-25 °C. Se agregó 30 % en peso de NaOEt en EtOH (427.4 g, 1.0 mol) en una porción a ~ 20-25 °C.

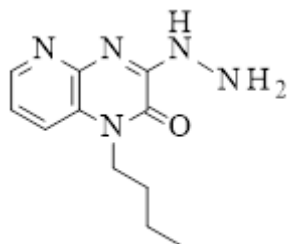
10 Se agregó oxalato de dietilo (87.1g, 0.6 mol) por goteo a ~ 20-30 °C y se agitó a TA por 2.5 hr. La mezcla de reacción se vertió en una mezcla de 0.5 M de HCl/DCM acuoso (1600 mL/1200mL) a ~ 0-10 °C con agitación. Se separaron las dos capas, la capa acuosa se extrajo con DCM (2 x 800 mL), se

15 lavó con agua (2 x 1600 mL), NaCl acuoso saturado (1600 mL), y se secó sobre Na₂SO₄. Se filtró y lo filtrado se concentró bajo presión reducida. El residuo sólido resultante se sometió a suspensión en ACN (200 mL) a ~20-25 °C por 30 min y el sólido resultante se aisló por filtración para dar el

20 compuesto del título (70.0g, 65% de rendimiento) como un sólido verde, adecuado para uso sin purificación adicional. ES/MS m/z 220.1 (M+1).

Preparación 4

1-butil-3-hidrazino-pirido[2,3-b]pirazin-2-ona

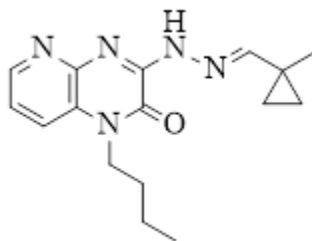


5 Esquema de reacción 1, etapa D: Se agregó monohidrato de hidrazina (3.55 mL, 73.0 mmol) a una mezcla de 1-butil-4H-pirido[2,3-b]pirazin-2,3-diona (3.2 g, 14.6 mmol) en EtOH (20 mL). La mezcla se calentó en un tubo sellado a 100 °C por 14 hr. La mezcla de reacción se enfrió a 0 °C y el
10 sólido se aisló por filtración. El sólido se lavó con Et₂O y se secó bajo vacío a 45 °C para obtener el compuesto del título (2.8 g, 82% de rendimiento) como un sólido de color verde, adecuado para uso sin purificación adicional. ES/MS m/z 234.2 (M+1).

15

Preparación 5

1-butil-3-[2-[(1-metilciclopropil)metilen]hidrazino]pirido[2,3-b]pirazin-2-ona



20

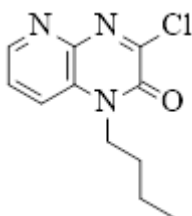
Esquema de reacción 1, etapa E: Se agregó 1-metilciclopropancarbaldehído (1.15 mL, 13.7 mmol) y AcOH (39.3 µL) a una mezcla de 1-butil-3-hidrazino-pirido[2,3-b]pirazin-2-ona (1.6 g, 6.9 mmol) en MeOH (20 mL). La mezcla
25

se agitó a TA por 1 hr. La mezcla se concentró bajo presión reducida y el producto se recrystalizó de hexano (50 mL). El sólido se aisló por filtración y se lavó con hexano para obtener el compuesto del título (1.30 g, 63% de rendimiento) como un sólido negro, adecuado para uso sin purificación adicional. ES/MS m/z 300.2 (M+1).

Preparación 6

1-butil-3-cloro-pirido[2,3-b]pirazin-2-ona

10

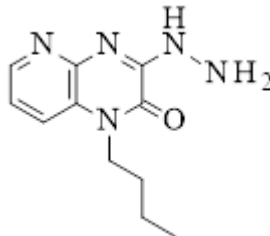


Esquema de reacción 2, etapa A: Se disolvió 1-butyl-4H-pirido[2,3-b]pirazin-2,3-diona (60.8 g, 0.3 mol) en ACN (10 mL/g, 600 mL) a ~ 20-25 °C. Se agregó DMF (4.2 mL) y se agregó SOCl₂ (99.0g, 0.8 mol) en una porción. La mezcla resultante se calentó a reflujo a ~ 75-80 °C por 2.5 hr. La mezcla de reacción se concentró a sequedad bajo presión reducida para dar el compuesto del título crudo (93.0g, >99% de rendimiento) como un sólido negro, adecuado para uso sin purificación adicional. ES/MS m/z 238.1 (M+1).

Preparación 7

1-butyl-3-hidrazino-pirido[2,3-b]pirazin-2-ona

25

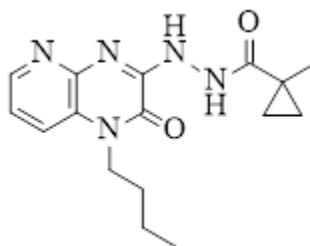


5 Esquema de reacción 2, etapa B: Se agregó THF (900 mL) a una solución acuosa al 85% (% en p/p) de monohidrato de hidrazina (48 g, 1.5 mol,) a TA. Se agregó 1-butil-3-cloropirido[2,3-b]pirazin-2-ona (90.0 g, 0.4 mol) para formar una suspensión y se agitó a TA por 16 hr. Se agregó agua (100
10 mL) a la mezcla de reacción y se agitó por 20 min. Se filtró y se lavó la torta de filtro con agua (2 x 400 mL) seguido por MTBE (2 x 400 mL). El agua se removió azeotropiando con 2-metil-THF (3 x 600 mL) bajo presión reducida para dar el compuesto del título (50.0g, 75% de rendimiento) como un
15 sólido verde, adecuado para uso sin purificación adicional. ES/MS m/z 234.1 (M+1).

Preparación 8

N'-(1-butil-2-oxo-pirido[2,3-b]pirazin-3-il)-1-metil-ciclopropancarbohidrazida

20

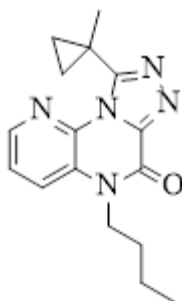


Esquema de reacción 2, etapa C: Se agregó ácido 1-
25 metilciclopropancarboxílico (30.9 g, 0.3 mol) a DMF (350 mL)

y TA y la mezcla se enfrió a 0 °C. A ~ -5-0 °C, se agregó EDCI (61.0 g, 0.3 mol) seguido por HOBT (41.75 g, 0.3 mol). A ~ -10-0 °C, se agregó TEA (62.47 g, 0.6 mol) por goteo durante 40 min y la mezcla resultante se agitó a ~ -5-0 °C por 20 min. Se agregó 1-butil-3-hidrazino-pirido[2,3-b]pirazin-2-ona (48.0 g, 0.2 mol,) a ~ 0-5 °C en una porción, se calentó a TA, y se agitó la suspensión resultante por 16 hr. La mezcla de reacción se vertió en HCl acuoso 0.6 M (1600 mL) y se lavó con MTBE (3 x 500 mL); las capas se separaron, la capa de MTBE se desechó, y se agregó DCM (1000 mL) a la capa acuosa. Se ajustó a pH ~ 7-8 con NaHCO₃ sólido (140 g), las capas se separaron, la capa acuosa se extrajo con DCM (3 x 600 mL), las capas orgánicas combinadas se lavaron secuencialmente con agua (3 x 1000 mL) y NaCl acuoso saturado (2 x 1000 mL). Se evaporó bajo presión reducida para dar el compuesto del título (45.0 g, 69% de rendimiento) como un sólido negro, adecuado para uso sin purificación adicional. ES/MS m/z 316.2 (M+1).

Ejemplo 1

5-butil-9-(1-metilciclopropil)pirido[3,2-e][1,2,4]triazolo[4,3-a]pirazin-6(5H)-ona



5

Esquema de reacción 1, etapa F: Se agregó 1-butyl-3-[2-[(1-metilciclopropil)metilen]-hidrazino]pirido[2,3-b]pirazin-2-ona (1.3 g, 4.3 mmol) a DCM (15 mL) y se enfrió la solución a 0 °C en un baño de hielo. Se agregó diacetato de yodosobenceno (2.9 g, 8.7 mmol) a la solución y la mezcla se agitó a TA por 1 hr. La mezcla de reacción se apagó con agua y se extrajo con DCM. Las capas orgánicas se lavaron con NaHCO₃ saturado, se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron, y concentraron bajo presión reducida, y el residuo resultante se purificó por cromatografía sobre sílice, eluyendo con EtOAc:hexanos (3:1), para obtener el compuesto del título (1.1 g, 85% de rendimiento) como un sólido blancuzco. ES/MS m/z 298.2 (M+1).

15

Procedimiento Alternativo para el Ejemplo 1

20

Esquema de reacción 2, etapa D: N'-(1-butyl-2-oxo-pirido[2,3-b]pirazin-3-il)-1-metil-ciclopropancarbohidrazida se sometió a suspensión (45.0 g, 0.1 mol) en HMDS (360 mL) a TA. Se agregó DBU (4.34 g, 28.5 mmol) y se calentó a 125 °C. La solución resultante se agitó por 6hr bajo reflujo. La mezcla de reacción se enfrió a TA, la mezcla se vertió en

25

agua (800 mL), y se filtró y recolectó el sólido resultante. Se disolvió el sólido en DCM (400 mL) / H₂O (100 mL), las capas resultantes se separaron, y la fase orgánica se lavó con NaCl acuoso saturado (100 mL), se secó sobre Na₂SO₄, se
 5 filtró, y lo filtrado se concentró bajo presión reducida para dar un residuo. Se trituró con EtOAc (200 mL) a 40~50 °C por 1 h, y el sólido resultante se aisló (22.0 g, 98% de pureza como se determina por LCMS) por filtración. Se combinó el lote de 22.0 g con otro lote de material (10.0 g, 100% de
 10 pureza como se determina por LCMS) y se purificó además por cromatografía sobre gel de sílice, eluyendo con DCM:EtOAc (1:1), para obtener un residuo después de la evaporación del solvente. El residuo resultante se trituró con EtOAc caliente por 30 min y el sólido resultante se aisló por filtración
 15 para dar el compuesto del título (25.70 g, 42% de rendimiento) como un sólido blanco. ES/MS m/z 298.2 (M+1).

Generación de Proteínas PDE

Las secuencias de nucleótido que codifican los PDE1A (NP_001003683.1), PDE1C (NP_005011.1), PDE5A
 20 (NP_001074.2), PDE7B (NP_061818.1) y PDE9A (NP_002597.1) humanas de longitud completa, se insertaron en el vector pFastBac1 (Invitrogen) con una etiqueta HIS N-termina. Las secuencias de nucleótido que codifican a PDE4D (NP_006194.2) humana de longitud completa y el dominio catalítico (residuo
 25 641-1141) de PDE3A (NP_000912.3) se insertaron en el vector

pFastBac1 (Invitrogen) con una etiqueta HIS C-terminal. Las secuencias de nucleótido que codifican a PDE8A (NP_002596.1) y PDE11A (AAI12394.1) humana de longitud completa, se insertaron en el vector pFastBac1 (Invitrogen) con una
5 etiqueta Flag N-terminal. Las secuencias de nucleótido que codifican a PDE10A (AAD32595.1) humana de longitud completa se insertaron en el vector pFastBac1 (Invitrogen) con una etiqueta Flag-His C-terminal. Las secuencias de nucleótido que codifican a PDE6A (NP_000431.2) y PDE6B (AAH00249.1)
10 humana de longitud completa, son insertadas en el vector pFastBacDual (Invitrogen) con una etiqueta HIS N-terminal y etiqueta Flag N-terminal, respectivamente, para la producción del dímero PDE6A/6B. La generación del baculovirus y la expresión de proteínas en células Sf9 se llevó a cabo de conformidad con el protocolo del sistema de Expresión de
15 Baculovirus Bac-a-Bac (Invitrogen). Las secuencias de nucleótido que codifican a PDE1B (NP_000915.1) y PDE2A (NP_002590.1) humana de longitud completa, se insertaron en pIEX4 (Novagen) con una etiqueta HIS C-terminal, y ambas
20 producciones de proteína en células Sf9 son llevadas a cabo de conformidad con el protocolo del vendedor (Novagen). Las proteínas PDE etiquetadas con His son purificadas usando Ni-NTA agarosa (Qiagen) seguido por cromatografía de exclusión de tamaño en una columna SUPERDEX® 200 (GE Healthcare) en
25 amortiguador de almacenamiento (20 mM de Tris-HCl, pH7.5, 150

mM de NaCl, 10% de Glicerol). Las proteínas PDE etiquetadas con Flag que incluyen PDE6A/6B son purificadas usando anti-Flag M2-agarosa (Sigma), después de la purificación a través de la cromatografía en columna NiNTA y eluidas en 5 amortiguador de almacenamiento (50 mM de Tris-HCl, pH7.5, 150 mM de NaCl, 10% de Glicerol, 0.1 mg/ml de péptido Flag). Todas las proteínas purificadas son almacenadas a -80°C en alícuotas pequeñas.

Ensayos de enzima de fosfodiesterasa

10 Todas las actividades de la enzima fosfodiesterasa (PDE) del nucleótido cíclico 3', 5', son medidas con un ensayo de enzima radiométrico a base del sistema de detección SPA (ensayo de proximidad por escintilación). Los compuestos que serán probados son diluidos en dimetilsulfóxido puro 15 (DMSO) usando curvas de respuesta de concentración de diez puntos. La concentración máxima del compuesto en la mezcla de reacción es ya sea 10 o 100 μ M. Los compuestos a la concentración apropiada son pre-incubados con cualquiera de las enzimas PDE por 30 minutos antes de que se inicie la 20 reacción por adición del sustrato. Las reacciones se dejan proceder por 60 minutos a temperatura ambiente. Después, las reacciones son detenidas por adición de perllillas de SPA. Las muestras son leídas 12 horas después en un Contador MICROBETA™ TRILUX®. La "IC₅₀" se refiere a la concentración 25 del compuesto que produce 50% de la respuesta inhibidora

máxima posible para tal compuesto. Los valores de IC_{50} son calculados trazando los datos normalizados contra el log [compuesto] y ajustando los datos usando una ecuación logística de cuatro parámetros.

5 Ensayos de enzima de PDE dependiente de Ca^{2+} - calmodulina

PDE1B, PDE1A, y PDE1C son clonados y purificados siguiendo los procedimientos de generación de proteína estándares. El amortiguador de ensayo se preparó para dar una concentración final en el ensayo de 50 mM de Tris-HCl, 50 mM
10 de $MgCl_2$, 4 mM de $CaCl_2$, 0.1% de albúmina de suero bovino y 6 U/ml de Calmodulina en agua, a pH 7.5. La concentración de la enzima final es 0.25, 0.074 y 0.0012 nM, para PDE1A, PDE1B y PDE1C respectivamente. Las reacciones son iniciadas por adición del sustrato, [^3H]cAMP, para dar una concentración
15 final de 47 nM.

Tabla 1: Potencia *in vitro* del Ejemplo 1 contra PDE1A, PDE1B, y PDE1C humana.

Enzimas PDE	IC_{50} (nM) del Ejemplo 1
PDE 1A	10.9 ± 2.6
PDE 1B	16.3 ± 9.1
PDE 1C	2.65 ± 0.9

Los datos en la Tabla 1 demuestran que el compuesto de Ejemplo 1 inhibe la actividad de la enzima humana PDE1A,
20 PDE1B, y PDE1C *in vitro*.

Ensayo de enzima PDE usando [³H]cAMP como sustrato

Las siguientes actividades de fosfodiesterasa son medidas usando [³H]cAMP como sustrato de reacción: PDE3A humana (dominio catalítico), PDE4D humana, PDE7B humana y PDE8A humana. Todas estas enzimas son clonadas y purificadas siguiendo procedimientos estándares. El amortiguador de ensayo se prepara para dar una concentración final en el ensayo de 50 mM de Tris-HCl, 8.3 mM de MgCl₂, 1.7 mM de ácido etilendiaminatetraacético (EDTA) y 0.1% de albúmina de suero Bovino a pH 7.5. Las concentraciones finales de la enzima son 0.008, 0.021, 0.5 y 0.06 nM para PDE3A, PDE4D, PDE7B y PDE8A, respectivamente. Las reacciones son iniciadas por adición del sustrato, [³H]cAMP, para dar una concentración final de 47 nM.

Tabla 2: La potencia *in vitro* del Ejemplo 1 contra PDE3A humana (dominio catalítico), PDE4D, PDE7B y PDE8A.

Enzimas PDE	IC ₅₀ (nM) del Ejemplo 1
PDE3A	>100000
PDE4D	11900 ± 1580
PDE7B	4170
PDE8A	>10000

Ensayos de enzima PDE usando [³H]cGMP como sustrato

Las siguientes actividades de fosfodiesterasa son medidas usando [³H]cGMP como sustrato de reacción: PDE2A

humana, PDE5A humana, PDE6A/6B humana, PDE9A humana, PDE10A humana y PDE11A humana. La forma activa catalítica de PDE6 humana es un dímero compuesto de subunidades α (PDE6A humana) y β (PDE6B humana). El dímero de PDE6A/6B humana se produce por estrategia de expresión y purificación, usando dos etapas de purificación, es decir, cromatografía de NiNTA y anti-FLAG Sepharose. El resto de las enzimas son clonadas y purificadas en casa siguiendo procedimientos estándares. El amortiguador de ensayo se preparó para dar una concentración final en el ensayo de 50 mM de Tris-HCl, 8.3 mM de MgCl_2 , 1.7 mM de EDTA y 0.1% de albúmina de suero bovino a pH 7.5. Las concentraciones enzimáticas finales son 0.2, 0.002, 5, 1, 0.03 y 0.03 nM para PDE2A humana, PDE5A humana, PDE6AB humana, PDE9A humana, PDE10A humana y PDE11A humana, respectivamente. Las reacciones son iniciadas por adición del sustrato, $[\text{}^3\text{H}]\text{cGMP}$, para dar una concentración final de 80 nM en el caso de ensayos de PDE2A humana, PDE10A humana, PDE5A humana, PDE6AB humana y PDE11A humana, mientras que para PDE9A humana, se usó 20 nM de $[\text{}^3\text{H}]\text{cGMP}$.

Tabla 3: Potencia *in vitro* del Ejemplo 1 contra PDE2A, PDE5A, PDE6AB, PDE9A, PDE10A y PDE11A.

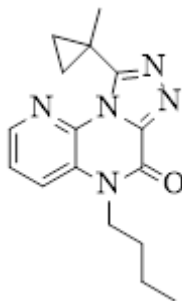
Enzimas PDE	IC ₅₀ (nM) del Ejemplo 1
PDE2A	>10000
PDE5A	3130
PDE 6AB	2460 $\pm$ 247
PDE9A	>10000
PDE10A	9340
PDE11A	389 $\pm$ 179

Los datos en las Tablas 1, 2 y 3, demuestran que el compuesto del Ejemplo 1 es un inhibidor selectivo de PDE1A, PDE1B, y PDE1C humana, con relación a PDE2A, PDE3A, PDE4D, PDE5A, PDE6AB, PDE7B, PDE8A, PDE9A, PDE10A, y PDE11A humana *in vitro*.

REIVINDICACIONES

Habiéndose descrito la invención como antecede, se reclama como propiedad lo contenido en las siguientes

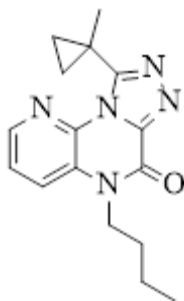
- 5 1. Un compuesto de la Fórmula:



10

o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable.

2. El compuesto de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque es:



15

3. Un método para tratar enfermedad renal crónica
20 en un paciente, caracterizado porque comprende administrar a un paciente en necesidad del mismo, una cantidad efectiva de un compuesto de conformidad con la reivindicación 1, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable.

4. Un método para tratar enfermedad renal
25 diabética en un paciente, caracterizado porque comprende

administrar a un paciente en necesidad del mismo, una cantidad efectiva de un compuesto de conformidad con la reivindicación 1, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable.

5 5. Un compuesto o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable de conformidad con la reivindicación 1, para uso en terapia.

6. Un compuesto o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable de conformidad con la
10 reivindicación 1, para uso en el tratamiento de enfermedad renal crónica.

7. Un compuesto o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable de conformidad con la reivindicación 1, para uso en el tratamiento de enfermedad
15 renal diabética.

8. Una composición farmacéutica, caracterizada porque comprende un compuesto o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable de conformidad con la reivindicación 1, con uno o más portadores, diluyentes, o
20 excipientes farmacéuticamente aceptables.

9. Un proceso para preparar una composición farmacéutica, caracterizado porque comprende mezclar un compuesto de conformidad con la reivindicación 1, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, con uno o más
25 portadores, diluyentes, o excipientes farmacéuticamente

aceptables.

10. Un método para tratar enfermedad renal crónica en un paciente, caracterizado porque comprende administrar a un paciente en necesidad del mismo, una cantidad efectiva de
5 un compuesto de conformidad con la reivindicación 2.

11. Un método para tratar enfermedad renal diabética en un paciente, caracterizado porque comprende administrar a un paciente en necesidad del mismo, una cantidad efectiva de un compuesto de conformidad con la
10 reivindicación 2.

12. Un compuesto de conformidad con la reivindicación 2 para uso, en el tratamiento de enfermedad renal crónica.

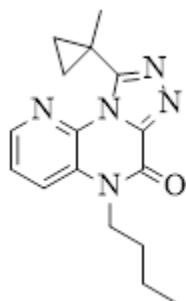
13. Un compuesto de conformidad con la
15 reivindicación 2 para uso, en el tratamiento de enfermedad renal diabética.

14. Una composición farmacéutica, caracterizada porque comprende un compuesto o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable de conformidad con la
20 reivindicación 2, con uno o más portadores, diluyentes, o excipientes farmacéuticamente aceptables.

RESUMEN DE LA INVENCIÓN

La presente invención se refiere a un compuesto de
Fórmula I:

5

**Fórmula I**

o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable,
10 para uso como un inhibidor de PDE1 humana.

15

PATENT COOPERATION TREATY

From the INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

PCT

To:
Lentz, Nelsen L
Eli Lilly and Company
P.O. Box 6288
Indianapolis, IN 46206-6288
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

NOTIFICATION OF TRANSMITTAL OF
THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT AND
THE WRITTEN OPINION OF THE INTERNATIONAL
SEARCHING AUTHORITY, OR THE DECLARATION

(PCT Rule 44.1)

	Date of mailing (day/month/year) 7 November 2017 (07-11-2017)
Applicant's or agent's file reference X21120	FOR FURTHER ACTION See paragraphs 1 and 4 below
International application No. PCT/US2017/047479	International filing date (day/month/year) 18 August 2017 (18-08-2017)
Applicant ELI LILLY AND COMPANY	

1. ☒ The applicant is hereby notified that the international search report and the written opinion of the International Searching Authority have been established and are transmitted herewith.

Filing of amendments and statement under Article 19:

The applicant is entitled, if he so wishes, to amend the claims of the International Application (see Rule 46):

When? The time limit for filing such amendments is normally two months from the date of transmittal of the International Search Report.

How? Directly to the International Bureau of WIPO, 34 chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland, Facsimile No.: (41-22) 338.82.70

For more detailed instructions, see PCT Applicant's Guide, International Phase, paragraphs 9.004 - 9.011.

2. ☐ The applicant is hereby notified that no international search report will be established and that the declaration under Article 17(2)(a) to that effect and the written opinion of the International Searching Authority are transmitted herewith.

3. ☐ **With regard to any protest** against payment of (an) additional fee(s) under Rule 40.2, the applicant is notified that:

- ☐ the protest together with the decision thereon has been transmitted to the International Bureau together with any applicant's request to forward the texts of both the protest and the decision thereon to the designated Offices.
☐ no decision has been made yet on the protest; the applicant will be notified as soon as a decision is made.

4. Reminders

The applicant may **submit comments on an informal basis on the written opinion of the International Searching Authority** to the International Bureau. These comments will be made available to the public after international publication. The International Bureau will send a copy of such comments to all designated Offices unless an international preliminary examination report has been or is to be established.

Shortly after the expiration of **18 months from the priority date, the international application will be published** by the International Bureau. If the applicant wishes to avoid or postpone publication, a notice of withdrawal of the international application, or of the priority claim, must reach the International Bureau before the completion of the technical preparations for international publication (Rules 90*bis*.1 and 90*bis*.3).

Within **19 months** from the priority date, but only in respect of some designated Offices, a demand for international preliminary examination must be filed if the applicant wishes to postpone the entry into the national phase **until 30 months** from the priority date (in some Offices even later); otherwise, the applicant must, **within 20 months** from the priority date, perform the prescribed acts for **entry into the national phase** before those designated Offices. In respect of other designated Offices, the time limit of **30 months** (or later) will apply even if no demand is filed within 19 months. For details about the applicable time limits, Office by Office, see www.wipo.int/pct/en/texts/time_limits.html and the *PCT Applicant's Guide, National Chapters*.

Within **22 months from the priority date, the applicant may request that a supplementary international search be carried out** by a different International Searching Authority that offers this service (Rule 45*bis*.1). The procedure for requesting supplementary international search is described in the *PCT Applicant's Guide, International Phase, paragraphs 8.006-8.032*.

Name and mailing address of the International Searching Authority



European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL-2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

PFITZNER, Gabriele
Tel: +49 (0)89 2399-8032

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference X21120	FOR FURTHER ACTION see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, item 5 below.	
International application No. PCT/US2017/047479	International filing date (<i>day/month/year</i>) 18 August 2017 (18-08-2017)	(Earliest) Priority Date (<i>day/month/year</i>) 25 August 2016 (25-08-2016)
Applicant ELI LILLY AND COMPANY		

This international search report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This international search report consists of a total of 4 sheets.

☒ It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

1. Basis of the report

a. With regard to the **language**, the international search was carried out on the basis of:

- ☒ the international application in the language in which it was filed
☐ a translation of the international application into _____, which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1(b))

b. ☐ This international search report has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43.6**bis**(a)).

c. ☐ With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, see Box No. I.

2. ☐ **Certain claims were found unsearchable** (See Box No. II)

3. ☐ **Unity of invention is lacking** (see Box No. III)

4. With regard to the **title**,

- ☒ the text is approved as submitted by the applicant
☐ the text has been established by this Authority to read as follows:

5. With regard to the **abstract**,

- ☒ the text is approved as submitted by the applicant
☐ the text has been established, according to Rule 38.2, by this Authority as it appears in Box No. IV. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority

6. With regard to the **drawings**,

- a. the figure of the **drawings** to be published with the abstract is Figure No. _____
☐ as suggested by the applicant
☐ as selected by this Authority, because the applicant failed to suggest a figure
☐ as selected by this Authority, because this figure better characterizes the invention
b. ☐ none of the figures is to be published with the abstract

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2017/047479

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. C07D471/14 A61K31/4985 A61P13/12
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07D A61K A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, CHEM ABS Data, EMBASE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A,P	WO 2017/139186 A1 (LILLY CO ELI [US]) 17 August 2017 (2017-08-17) abstract	1-14
A	----- WO 2016/022825 A1 (INTRA CELLULAR THERAPIES INC [US]) 11 February 2016 (2016-02-11) abstract; claims 1-30; examples 1-9	1-14
A	----- US 2016/083400 A1 (BURDI DOUGLAS F [US] ET AL) 24 March 2016 (2016-03-24) abstract; claims 3 (II-g), 11-16 page 70; example 228 page 77; example 256	1-14
A	----- WO 2016/055618 A1 (LUNDBECK & CO AS H [DK]) 14 April 2016 (2016-04-14) abstract; claims 1-15; examples 1-84 ----- -/--	1-14

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

18 October 2017

Date of mailing of the international search report

07/11/2017

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Papathoma, Sofia

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2017/047479

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2010/048556 A1 (OKADA MAKOTO [JP] ET AL) 25 February 2010 (2010-02-25) cited in the application the whole document in particular paragraphs [0127]-[0139] -----	1-14
A	ASIER UNCITI-BROCETA ET AL: "Regioselective One-Pot Synthesis of 9-Alkyl-6-chloropyrido[3,2-e][1,2,4]triazolo-[4,3-a]pyrazines. Reactivity of Aliphatic and Aromatic Hydrazides", THE JOURNAL OF ORGANIC CHEMISTRY, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, US, vol. 70, no. 7, 1 April 2005 (2005-04-01), pages 2878-2880, XP008111170, ISSN: 0022-3263, DOI: 10.1021/J00478398 [retrieved on 2005-03-05] page 2880; table 1 -----	1-14

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2017/047479

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2017139186 A1	17-08-2017	US 2017233396 A1 WO 2017139186 A1	17-08-2017 17-08-2017
WO 2016022825 A1	11-02-2016	US 2017217975 A1 WO 2016022825 A1	03-08-2017 11-02-2016
US 2016083400 A1	24-03-2016	NONE	
WO 2016055618 A1	14-04-2016	AR 102227 A1 AU 2015329898 A1 CA 2961986 A1 CN 106715438 A DO P2017000080 A EP 3204387 A1 KR 20170066417 A SG 11201702874Y A SV 2017005419 A TW 201629064 A WO 2016055618 A1	15-02-2017 30-03-2017 14-04-2016 24-05-2017 15-05-2017 16-08-2017 14-06-2017 30-05-2017 07-06-2017 16-08-2016 14-04-2016
US 2010048556 A1	25-02-2010	AU 2007332440 A1 CA 2671980 A1 CN 101553491 A EP 2103613 A1 EP 2489667 A1 EP 2848620 A1 ES 2536906 T3 ES 2566774 T3 ES 2599054 T3 JP 5578786 B2 JP 5744288 B2 JP 2014205686 A JP W02008072779 A1 KR 20090097919 A KR 20140139631 A US 2010048556 A1 US 2013225572 A1 US 2014336197 A1 WO 2008072779 A1	19-06-2008 19-06-2008 07-10-2009 23-09-2009 22-08-2012 18-03-2015 29-05-2015 15-04-2016 31-01-2017 27-08-2014 08-07-2015 30-10-2014 02-04-2010 16-09-2009 05-12-2014 25-02-2010 29-08-2013 13-11-2014 19-06-2008

Information on Search Strategy - Pilot phase (see OJ 2015, A86)

The type of information contained in this sheet may change during the pilot for improving the usefulness of this new service.

Application Number

PCT/US2017/047479

TITLE: TRIAZOLOPYRAZINONE DERIVATIVE USEFUL AS A HUMAN PDE1 INHIBITOR

APPLICANT: ELI LILLY AND COMPANY

IPC CLASSIFICATION: C07D471/14, A61K31/4985, A61P13/12

EXAMINER: Papathoma, Sofia

CONSULTED DATABASES: NPL, WPI, BIOSIS, CA, COMPENDEX, EMBASE, EPODOC, MEDLINE, REAXYS

CLASSIFICATION SYMBOLS DEFINING EXTENT OF THE SEARCH:

IPC:

CPC: C07D, C07D471/14

FI/F-TERMS:

KEYWORDS OR OTHER ELEMENTS FEATURING THE INVENTION:

pde+

+pyrazin+

+triazol+

PATENT COOPERATION TREATY

From the
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

To:

see form PCT/ISA/220

PCT

WRITTEN OPINION OF THE INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY (PCT Rule 43bis.1)

Date of mailing

(day/month/year) see form PCT/ISA/210 (second sheet)

Applicant's or agent's file reference
see form PCT/ISA/220

FOR FURTHER ACTION

See paragraph 2 below

International application No.
PCT/US2017/047479

International filing date (day/month/year)
18.08.2017

Priority date (day/month/year)
25.08.2016

International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC
INV. C07D471/14 A61K31/4985 A61P13/12

Applicant
ELI LILLY AND COMPANY

1. This opinion contains indications relating to the following items:

- ☒ Box No. I Basis of the opinion
- ☒ Box No. II Priority
- ☐ Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- ☐ Box No. IV Lack of unity of invention
- ☒ Box No. V Reasoned statement under Rule 43bis.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step and industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- ☒ Box No. VI Certain documents cited
- ☐ Box No. VII Certain defects in the international application
- ☐ Box No. VIII Certain observations on the international application

2. FURTHER ACTION

If a demand for international preliminary examination is made, this opinion will usually be considered to be a written opinion of the International Preliminary Examining Authority ("IPEA") except that this does not apply where the applicant chooses an Authority other than this one to be the IPEA and the chosen IPEA has notified the International Bureau under Rule 66.1bis(b) that written opinions of this International Searching Authority will not be so considered.

If this opinion is, as provided above, considered to be a written opinion of the IPEA, the applicant is invited to submit to the IPEA a written reply together, where appropriate, with amendments, before the expiration of 3 months from the date of mailing of Form PCT/ISA/220 or before the expiration of 22 months from the priority date, whichever expires later.

For further options, see Form PCT/ISA/220.

Name and mailing address of the ISA:



European Patent Office

D-80298 Munich
Tel. +49 89 2399 - 0
Fax: +49 89 2399 - 4465

Date of completion of
this opinion

see form
PCT/ISA/210

Authorized Officer

Papathoma, Sofia

Telephone No. +49 89 2399-0



**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.
PCT/US2017/047479

Box No. I Basis of the opinion

1. With regard to the **language**, this opinion has been established on the basis of:
 - ☒ the international application in the language in which it was filed.
 - ☐ a translation of the international application into , which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1 (b)).
2. ☐ This opinion has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43*bis*.1(a))
3. ☐ With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, this opinion has been established on the basis of a sequence listing:
 - a. ☐ forming part of the international application as filed:
 - ☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file.
 - ☐ on paper or in the form of an image file.
 - b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13*ter*.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
 - c. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
 - ☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13*ter*.1(a)).
 - ☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13*ter*.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).
4. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
5. Additional comments:

Box No. II Priority

1. ☒ The validity of the priority claim has not been considered because the International Searching Authority does not have in its possession a copy of the earlier application whose priority has been claimed or, where required, a translation of that earlier application. This opinion has nevertheless been established on the assumption that the relevant date (Rules 43*bis*.1 and 64.1) is the claimed priority date.
2. ☐ This opinion has been established as if no priority had been claimed due to the fact that the priority claim has been found invalid (Rules 43*bis*.1 and 64.1). Thus for the purposes of this opinion, the international filing date indicated above is considered to be the relevant date.
3. Additional observations, if necessary:

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.
PCT/US2017/047479

Box No. V Reasoned statement under Rule 43bis.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Yes: Claims	<u>1-14</u>
	No: Claims	
Inventive step (IS)	Yes: Claims	<u>1-14</u>
	No: Claims	
Industrial applicability (IA)	Yes: Claims	<u>1-14</u>
	No: Claims	

2. Citations and explanations

see separate sheet

Box No. VI Certain documents cited

1. Certain published documents (Rules 43bis.1 and 70.10)

and / or

2. Non-written disclosures (Rules 43bis.1 and 70.9)

see form 210

This **Written Opinion** is based on the following application documents:

Description, Pages:

1-19 as originally filed

Claims, Numbers:

1-14 as originally filed

The present application relates to the compound 5-butyl-9-(1-methylcyclopropyl)-pyrido[3,2-e][1,2,4]triazolo[4,3-a]pyrazin-6(5H)-one and to pharmaceutically acceptable salts thereof being useful as PDE1 inhibitors.

Re Item V

Reasoned statement with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

Reference is made to the following documents:

- D2 WO 2016/022825 A1 (INTRA CELLULAR THERAPIES INC [US]) 11 February 2016 (2016-02-11)
- D3 US 2016/083400 A1 (BURDI DOUGLAS F [US] ET AL) 24 March 2016 (2016-03-24)
- D4 WO 2016/055618 A1 (LUNDBECK & CO AS H [DK]) 14 April 2016 (2016-04-14)
- D5 US 2010/048556 A1 (OKADA MAKOTO [JP] ET AL) 25 February 2010 (2010-02-25)cited in the application
- D6 ASIER UNCITI-BROCETA ET AL: "Regioselective One-Pot Synthesis of 9-Alkyl-6-chloropyrido[3,2-e][1,2,4]triazolo-[4,3-a]pyrazines. Reactivity of Aliphatic and Aromatic Hydrazides",
THE JOURNAL OF ORGANIC CHEMISTRY, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, US,
vol. 70, no. 7, 1 April 2005 (2005-04-01), pages 2878-2880,
XP008111170,
ISSN: 0022-3263, DOI: 10.1021/JO0478398
[retrieved on 2005-03-05]

Claims 3, 4, 10 and 11 relate to subject-matter considered by this Authority to be covered by the provisions of Rule 39.1(iv) / 67.1(iv) PCT.

The patentability can be dependent upon the formulation of the claims. The EPO, for example, does not recognise as patentable claims to the use of a compound in medical treatment, but may allow claims to a product, in particular substances or compositions for use in a first or further medical treatment.

1) Article 33 (2) PCT

Documents D2-D4 disclose PDE1 inhibitors that differ from the presently claimed entity in their core structure.

Document D5 discloses quinoxaline derivatives of the formula (I), the generic definition thereof covers the presently claimed entity. However, the 5-butyl-9-(1-methylcyclopropyl)-pyrido[3,2-e][1.2,4]triazolo[4,3-a]pyrazin-6(5H)-one of the present application is not disclosed among the examples of D5, nor a 1-methylcyclopropyl substitution of their core structure for that matter.

Document D6 discloses in Table 1 on page 2880, 6th entry the structurally closest related entity. This differs from the 5-butyl-9-(1-methylcyclopropyl)-pyrido[3,2-e][1.2,4]triazolo[4,3-a]pyrazin-6(5H)-one of the present application in that it lacks a butyl substitution at the 5-position of the core structure as well as a methyl substitution at the cyclopropyl moiety.

In view of the above, the 5-butyl-9-(1-methylcyclopropyl)-pyrido[3,2-e][1.2,4]triazolo[4,3-a]pyrazin-6(5H)-one according to claim 1 and 2 is a novel compound and as a consequence the subject-matter relating to it is also novel. The requirements of Article 33(2) PCT are therefore acknowledged as fulfilled.

2) Article 33(3) PCT

PDE1 inhibitors are known in the art (see documents D2-D4). As closest prior art may be equally considered to be documents D2 and D3.

In view of the closest prior art the technical problem underlying the present application is seen in the provision of further PDE1 inhibitors.

As solution is claimed the compound 5-butyl-9-(1-methylcyclopropyl)-pyrido[3,2-e][1.2,4]triazolo[4,3-a]pyrazin-6(5H)-one and pharmaceutically acceptable salts thereof.

The tests on pages 16-19 (and in particular Tables 1-3) show that the claimed entity has the claimed activity.

In addition, the person skilled in the art would have not come up to the structural design of the claimed entity taking into consideration the disclosures of the cited prior art.

The core structure of the PDE1 inhibitors disclosed in documents D2-D4 differs significantly from the core structure of 5-butyl-9-(1-methylcyclopropyl)-pyrido[3,2-e][1.2,4]triazolo[4,3-a]pyrazin-6(5H)-one.

Even if the person skilled in the art were to take document D5 into account disclosing a generic formula that covers the presently claimed entity, he would have to carry out various selections in order to come to present compound 5-butyl-9-(1-methylcyclopropyl)pyrido[3,2-e][1.2,4]triazolo[4,3-a]pyrazin-6(5H)-one. In this respect, it is also mentioned that the 1-methylcyclopropyl substitution is not disclosed in none of the examples of D5, while a butyl substitution is disclosed for a different position of the core structure. What is more, document D5 relates to PDE9 inhibitors.

Finally, the person skilled in the art would neither take the disclosure of document D6 into account as this document relates to a different technical field, i.e. adenosine receptor antagonists.

In view of the above, it is acknowledged that the structural design of 5-butyl-9-(1-methylcyclopropyl)-pyrido[3,2-e][1.2,4]triazolo[4,3-a]pyrazin-6(5H)-one is based on inventive step. As a consequence, the subject-matter relating to the 5-butyl-9-(1-methylcyclopropyl)-pyrido[3,2-e][1.2,4]triazolo[4,3-a]pyrazin-6(5H)-one is also acknowledged to be based on inventive step. The requirements of Article 33(3) PCT are therefore acknowledged as fulfilled.

Re Item VI

Certain documents cited

Document:

D1 WO 2017/139186 A1 (LILLY CO ELI [US]) 17 August 2017 (2017-08-17)

can not be considered as prior art document under Article 33(2) PCT, because it is published after the priority and before the filing date of the application. This document discloses a structurally close related PDE1 inhibitor that is however not prejudicial to the novelty of the presently claimed 5-butyl-9-(1-methylcyclopropyl)-pyrido[3,2-e][1.2,4]triazolo[4,3-a]pyrazin-6(5H)-one.

Possible steps after receipt of the international search report (ISR) and written opinion of the International Searching Authority (WO/ISA)

General information

For all international applications, the competent International Searching Authority (ISA) will establish an international search report (ISR) accompanied by a written opinion of the International Searching Authority (WO/ISA). The WO/ISA may be responded to by

- filing informal comments with the **International Bureau of WIPO (IB)** (where no demand for international preliminary examination (**demand**) is filed)
- filing amendments under Art. 19 PCT (this can be done whether or not a **demand** is filed)
- filing amendments under Art. 34 PCT and/or formal observations in response to objections raised in the **WO/ISA** (where a **demand** is actually filed)

This document explains these possibilities.

Filing informal comments

After receipt of the **ISR and WO/ISA**, the applicant may file informal comments on the **WO/ISA**, **directly with the IB** (see International Search and Preliminary Examination Guidelines 2.15). These will be communicated to the designated/elected Offices, together with the International Preliminary Report on Patentability (**IPRP**) at 30 months from the priority date.

Amending claims under Art. 19 PCT

The applicant may file **amended claims** under Art. 19 PCT, **directly with the IB** by the later of the following dates:

- 2 months from the date of mailing of the **ISR** and the **WO/ISA**
- 16 months from the priority date

However, any such amendment received by the **IB** after the expiration of the applicable time limit shall be **considered to have been received on time** by the **IB**, if it reaches it **before** the technical preparations for international publication have been completed (the 15th day prior to the date of publication, see PCT Applicant's Guide, International Phase, 9.013).

For further information, please see Rule 46 PCT as well as form PCT/ISA/220.

Please also note that, when filing amended claims under Art. 19 PCT, such amendments shall be **accompanied by a letter** identifying the amendments made and also the basis for the amendments in the application as originally filed (Rule 46.5(b) PCT). Where a **demand** is filed, failure to comply with this requirement may result in the amendments being ignored in the International Preliminary Examination Report (**IPER**), see Rule 70.2(c-bis) PCT.

**Filing a demand
for international
preliminary
examination**

In principle, the **WO/ISA** will be considered to be the written opinion of the International Preliminary Examining Authority (**IPEA**). Where the **WO/ISA** issued by the **EPO** as **ISA** gives a positive opinion on the international application and the invention to which it relates, filing a **demand** with the **EPO** as **IPEA** would normally be unnecessary, since a positive IPRP would anyway be established by the **IB** based on the **WO/ISA** (see also further below).

If the applicant wishes to file a **demand** (for example, to allow him to argue his case in international preliminary examination with regard to objections raised in a negative **WO/ISA** before the **IPEA** issues an **IPER**), this must be done before expiration of **3 months after the date of mailing of the ISR and WO/ISA** or **22 months after priority date**, whichever expires later (Rule 54*bis* PCT). Amendments under Art. 34 PCT can be filed with the **IPEA**, normally at the same time as filing the demand (Rule 66.1(b) PCT) or within the time limit set for reply to any written opinion issued during international preliminary examination by the **IPEA**.

If a **demand** is filed at the **EPO** as **IPEA** and no comments/amendments have been received by the time the **EPO** starts drawing up the **IPER** (Rule 66.4*bis* PCT), the **WO/ISA** will be transformed by the **IPEA** into an **IPER** (also called the **IPRP (Chapter II)** which would merely reflect the content of the **WO/ISA** (OJ 10/2011, 532). The **demand** can still be withdrawn (Art. 37 PCT).

Please also note that, when filing amendments under Art. 34 PCT, such amendments shall be accompanied by a letter which identifies the amendments made and also the basis for the amendments in the application as originally filed (Rule 66.8(a) PCT). Failure to comply with this requirement may result in the amendments being ignored in the **IPER (IPRP (Chapter II))**, see Rule 70.2(c-*bis*) PCT.

**Filing a request
for supplementary
international
search**

The applicant may, with the **IB**, file a request for **supplementary international search** under Rule 45*bis*.1 PCT. The present **ISR** and **WO/ISA** may also be taken into account in the execution of that supplementary international search, provided that these are available to the Authority charged with this task before it starts the supplementary search (Rule 45*bis*.5 PCT).

This kind of request **cannot be filed specifying the ISA** who did the **international search**.

More information on this topic can be found in the **PCT Applicant's Guide**, Chapter 8 (<http://www.wipo.int/pct/en/guide/ip08.html>).

**End of the
international
phase**

Where no **demand** is filed, at the end of the international phase, the **IB** will transform the **WO/ISA** into the **IPRP (PCT Chapter I)** (Rule 44*bis* PCT), which will then be transmitted together with possible informal comments to the designated Offices. Where a demand is filed, the **WO/ISA** is not transformed into an **IPRP (Chapter I)** by the **IB**, but rather the **IPEA** will establish an **IPER**, (the **IPER** is the same as the **IPRP (PCT Chapter II)**, see Rule 70.15 PCT).

Bitte beachten Sie, dass angeführte Nichtpatentliteratur (wie z. B. wissenschaftliche oder technische Dokumente) je nach geltendem Recht dem Urheberrechtsschutz und/oder anderen Schutzarten für schriftliche Werke unterliegen könnte. Die Vervielfältigung urheberrechtlich geschützter Texte, ihre Verwendung in anderen elektronischen oder gedruckten Publikationen und ihre Weitergabe an Dritte ist ohne ausdrückliche Zustimmung des Rechtsinhabers nicht gestattet.

Veuillez noter que les ouvrages de la littérature non-brevets qui sont cités, par exemple les documents scientifiques ou techniques, etc., peuvent être protégés par des droits d'auteur et/ou toute autre protection des écrits prévue par les législations applicables. Les textes ainsi protégés ne peuvent être reproduits ni utilisés dans d'autres publications électroniques ou imprimées, ni rediffusés sans l'autorisation expresse du titulaire du droit d'auteur.

Please be aware that cited works of non-patent literature such as scientific or technical documents or the like may be subject to copyright protection and/or any other protection of written works as appropriate based on applicable laws. Copyrighted texts may not be copied or used in other electronic or printed publications or re-distributed without the express permission of the copyright holder.