



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 333 719**

51 Int. Cl.:

C07D 207/22 (2006.01)

C07D 403/06 (2006.01)

C07D 413/06 (2006.01)

A61K 31/40 (2006.01)

A61K 31/4025 (2006.01)

A61P 15/06 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **04711384 .0**

96 Fecha de presentación : **16.02.2004**

97 Número de publicación de la solicitud: **1597229**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **23.11.2005**

54

Título: **Derivados de pirrolidina en calidad de antagonistas de oxitocina.**

30

Prioridad: **27.02.2003 EP 03100477**

45

Fecha de publicación de la mención BOPI:
26.02.2010

45

Fecha de la publicación del folleto de la patente:
26.02.2010

73

Titular/es: **Merck Serono S.A.**
Centre Industriel
1267 Coinsins, Vaud, CH

72

Inventor/es: **Schwarz, Matthias;**
Jorand-Lebrun, Catherine y
Valognes, Delphine

74

Agente: **Elzaburu Márquez, Alberto**

ES 2 333 719 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Derivados de pirrolidina en calidad de antagonistas de oxitocina.

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a nuevos derivados de pirrolidina, en particular para su uso como medicamentos, así como a formulaciones farmacéuticas que contienen a dichos derivados de pirrolidina. Tales derivados de pirrolidina son útiles en el tratamiento y/o la prevención de parto prematuro, nacimiento prematuro y dismenorrea. Preferiblemente, los derivados de pirrolidina muestran una actividad antagonista notablemente moduladora del receptor de oxitocina. Más preferiblemente, dichos compuestos son útiles en el tratamiento y/o la prevención de estados de enfermedad mediados por oxitocina, incluyendo parto prematuro, nacimiento prematuro y dismenorrea.

15 **Antecedentes de la invención**

En el campo de la obstetricia, uno de los problemas más importantes es el control del parto prematuro y del nacimiento prematuro ya que representan una causa principal de la morbilidad y mortalidad perinatal.

Para el tratamiento del parto prematuro se ha sugerido el uso de sulfato de magnesio y etanol. Sin embargo, el sulfato de magnesio a concentraciones en plasma por encima del intervalo terapéutico de 4 a 8 mg/dL puede causar la inhibición de la conducción cardíaca y de la transmisión neuromuscular, depresión respiratoria y paro cardíaco, haciendo así que este agente sea notablemente inadecuado cuando existe una disfunción de la función renal.

El etanol es eficaz en la prevención del parto prematuro, pero no produce una reducción correspondiente en la incidencia de la dificultad respiratoria fetal. Además, se asume que el etanol tiene un impacto negativo sobre el feto.

Otros dos agentes terapéuticos entran dentro de los grupos de:

- a) agonistas β 2-adrenérgicos, o
- b) antagonistas de oxitocina.

El receptor β 2-adrenérgico causa generalmente una acción inhibitoria dentro de las células en las que se expresa (músculos, corazón, útero, etc). Los agonistas β 2-adrenérgicos se usan para activar dicha acción inhibitoria del receptor. Por lo tanto, los agonistas β 2-adrenérgicos son agentes simpatomiméticos que -entre otras cosas- inhiben la contractilidad uterina. Los agonistas β 2-adrenérgicos conocidos para el tratamiento del parto prematuro son Ritodrina, Terbutalina y Albuterol.

La Ritodrina (es decir, el (R*,S*)-4-hidroxi- α -[1-[[2-(4-hidroxifenil)etil]amino]etil]-bencenometanol; véase el documento de EE.UU. N°. 3.410.944 de N. V. Philips) es el agonista β 2-adrenérgico principal pero causa diversos efectos secundarios cardiovasculares y metabólicos en la madre, incluyendo taquicardias, aumento de la secreción de renina, hiperglucemia (e hipoglucemia reactiva en el niño).

La Terbutalina (es decir, el 5-[2-[(1,1-dimetiletil)amino]-1-hidroxi-1,3-bencenodiol, véase el documento de EE.UU. N°. 3.937.838, Draco) y el Albuterol (α^1 -[(1,1-dimetiletil)amino]metil]-4-hidroxi-1,3-bencenodimetanol; documento de EE.UU. N°. 3.644.353, Allen y Hanburys) son otros agonistas β -adrenérgicos y tienen efectos secundarios similares a los de la Ritodrina.

Un enfoque más reciente del tratamiento del parto prematuro consiste en el uso de antagonistas de oxitocina.

La oxitocina (OT) es un nona-péptido cíclico cuyas acciones están mediadas por la activación de receptores acoplados a la proteína G específicos actualmente clasificados en los receptores OT (OT-R) (1).

La oxitocina (OT) causa la contracción del útero de los mamíferos durante el parto. El receptor de oxitocina correspondiente pertenece a la familia de los receptores acoplados a la proteína G y es similar a los receptores de vasopresina V₁ y V₂. Los receptores de OT aumentan drásticamente durante el avance del embarazo. Se ha demostrado que la concentración de los receptores de OT se correlaciona con la actividad uterina espontánea (2-3). Las contracciones inducidas por OT del útero durante el parto causan la dilatación de la cerviz y eventualmente el movimiento del feto a través del canal vaginal. En algunos casos, estas contracciones ocurren antes de que el feto sea totalmente viable, causando un parto prematuro. El parto prematuro y el nacimiento prematuro son indeseados ya que son las principales causas de la morbilidad perinatal. Por lo tanto, el control del parto prematuro representa un problema significativo en el campo de la obstetricia.

En los últimos años, se han acumulado importantes evidencias que indican que la hormona oxitocina desempeña una función principal en la iniciación del parto en mamíferos, en particular en seres humanos. Por eso, se asume que la oxitocina ejerce dicho efecto en un modo tanto directo como indirecto, contrayendo el miometrio uterino y potenciando la síntesis y liberación de prostaglandinas contráctiles del endometrio/decidua uterino. Estas prostaglandinas pueden

desempeñar además una función en el proceso de maduración cervical. Esta “sobre-regulación” de los receptores de oxitocina y el aumento de la sensibilidad uterina parece ser debida a efectos tróficos de niveles en plasma crecientes de estrógenos hacia el término. Mediante la des-regulación de la oxitocina, se espera que pudieran ser bloqueados tanto los efectos directos (contráctiles) como los indirectos (mayor síntesis de prostaglandina) de la oxitocina en el útero. Un modulador de la oxitocina, por ejemplo, un bloqueante o antagonista sería probablemente eficaz para el tratamiento del parto prematuro.

Una afección más, relacionada con la oxitocina, es la dismenorrea, que se caracteriza por dolor o malestar asociado a la menstruación. Se piensa que el dolor está causado por las contracciones uterinas y la isquemia, probablemente mediadas por el efecto de prostaglandinas producidas en el endometrio secretor. Mediante el bloqueo de los efectos indirectos y directos de la oxitocina en el útero, un antagonista de oxitocina sería probablemente un candidato para el tratamiento de la dismenorrea. Algunos agentes que contrarrestan la acción de la oxitocina se usan actualmente en estudios clínicos (4).

El Atosiban, un antagonista de OT peptídico que ya está en el mercado, presenta el problema de la mayoría de los péptidos: baja biodisponibilidad oral lo que causa su degradación intestinal. Dichos compuestos deben administrarse parenteralmente.

Se espera que el desarrollo de ligandos no peptídicos para los receptores de hormonas peptídicas supere este problema. Se han publicado antagonistas de oxitocina selectivos de molécula pequeña en Merck. Además de los hexapéptidos cíclicos, Merck sugirió indanilpiperidinas y tolil-piperazinas como antagonistas de OT administrables oralmente (5). En los documentos WO 96/22775 y US-5.756.497, Merck publicó benzoxazinilpiperidinas o benzoxazinonas como antagonistas del receptor de OT.

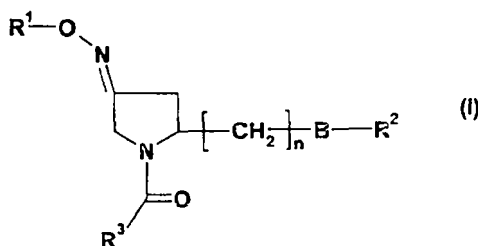
Se ha publicado que las sulfonamidas específicas antagonizan a la oxitocina en el receptor de oxitocina. El documento de Elf Sanofi EP-A-0469984 y el documento EP-A-0526348 muestran indolinas de N-sulfonilo que actúan como antagonistas de la vasopresina y los receptores de oxitocina.

El documento de EE.UU. N°. 5.889.001 de American Cyanamid reivindica derivados de pirazol benzodiazepina como antagonistas de vasopresina y oxitocina.

Los antagonistas de OT descritos en los documentos WO 01/72705, WO 02/074741 y WO 02/102799 (Applied Research Systems ARS Holding) son compuestos del tipo pirrolidina.

Sumario de la invención

En un primer aspecto, la invención proporciona nuevos derivados de pirrolidina de fórmula I:



En un segundo aspecto, la presente invención proporciona nuevos derivados de pirrolidina de fórmula (I) para su uso como un medicamento.

En un tercer aspecto, la invención proporciona un compuesto de fórmula I, para la preparación de una composición farmacéutica útil en el tratamiento y/o la prevención de parto prematuro, nacimiento prematuro, dismenorrea.

En un cuarto aspecto, la invención proporciona un método de síntesis de un compuesto de acuerdo con la fórmula I.

Descripción detallada de la invención

Los siguientes párrafos proporcionan definiciones de los diversos restos químicos que conforman los compuestos de acuerdo con la invención y que se pretenden aplicar uniformemente a través de la memoria descriptiva y las reivindicaciones y, a menos que se exprese de otra forma, la definición proporciona una definición más amplia.

“Alquilo C₁-C₆” se refiere a grupos alquilo monovalentes que tienen de 1 a 6 átomos de carbono. Esta expresión se ilustra con grupos tales como metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo, *tert*-butilo, n-hexilo y similares.

ES 2 333 719 T3

“Ariilo” se refiere a grupo carbocíclico aromático insaturado de entre 6 y 14 átomos de carbono que tiene un anillo sencillo (por ejemplo, fenilo) o múltiples anillos condensados (por ejemplo, naftilo). Los ariilos preferidos incluyen fenilo, naftilo, fenantrenilo y similares.

5 “Alquil C₁-C₆ ariilo” se refiere a grupos alquilo C₁-C₆ que tienen un sustituyente de ariilo, incluyendo bencilo, fenetilo y similares.

10 “Heteroarilo” se refiere a un grupo heteroaromático monocíclico, o un anillo heteroaromático fusionado bicíclico o tricíclico. Los ejemplos particulares de grupos heteroaromáticos incluyen, opcionalmente sustituidos, piridilo, pirrolilo, furilo, tienilo, imidazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, tiazolilo, isotiazolilo, pirazolilo, 1,2,3-triazolilo, 1,2,4-triazolilo, 1,2,3-oxadiazolilo, 1,2,4-oxadiazolilo, 1,2,5-oxadiazolilo, 1,3,4-oxadiazolilo, 1,3,4-triazinilo, 1,2,3-triazinilo, benzofurilo, [2,3-dihidro]benzofurilo, isobenzofurilo, benzotienilo, benzotriazolilo, isobenzotienilo, indolilo, isoindolilo, 3H-indolilo, benzimidazolilo, imidazol[1,2-a]piridilo, benzotiazolilo, benzoxazolilo, quinolizínilo, quinazolinilo, ftalazinilo, quinoxalinilo, cinnolinilo, naftiridinilo, pirido[3,4-b]piridilo, pirido[3,2-b]piridilo, pirido[4,3-b]piridilo, 15 quinolilo, isoquinolilo, tetrazolilo, 5,6,7,8-tetrahidroquinolilo, 5,6,7,8-tetrahidroisoquinolilo, purínilo, pteridinilo, carbazolilo, xantenilo o benzoquinolilo.

20 “Alquil C₁-C₆-heteroarilo” se refiere a grupos alquilo C₁-C₆ que tienen un sustituyente de heteroarilo, incluyendo 2-furilmetilo, 2-tienilmetilo, 2-(1H-indol-3-il)etilo y similares.

“Alquenilo C₂-C₆” se refiere a grupos alquenilo que tienen preferiblemente entre 2 y 6 átomos de carbono y que tienen al menos 1 ó 2 sitios de insaturación de alquenilo. Los grupos alquenilo preferibles incluyen etenilo (-CH=CH₂), n-2-propenilo (alilo, -CH₂CH=CH₂) y similares.

25 “Alquenil C₂-C₆-ariilo” se refiere a grupos alquenilo C₂-C₆ que tienen un sustituyente de ariilo, incluyendo 2-fenilvinilo y similares.

30 “Alquenil C₂-C₆-heteroarilo” se refiere a grupos alquenilo C₂-C₆ que tienen un sustituyente de heteroarilo, incluyendo 2-(3-piridinil)-vinilo y similares.

“Alquinilo C₂-C₆” se refiere a grupos alquinilo que tienen preferiblemente entre 2 y 6 átomos de carbono y que tienen al menos 1-2 sitios de instauración de alquinilo, grupos alquinilo preferidos incluyen etinilo (-C≡CH), propargilo (-CH₂C≡CH) y similares.

35 “Alquinil C₂-C₆-ariilo” se refiere a grupos alquinilo C₂-C₆ que tienen un sustituyente de ariilo, incluyendo feniletilinilo y similares.

40 “Alquinil C₂-C₆-heteroarilo” se refiere a grupos alquinilo C₂-C₆ que tienen un sustituyente de heteroarilo, incluyendo 2-tieniletilinilo y similares.

“Cicloalquilo C₃-C₈” se refiere a un grupo carbocíclico saturado de entre 3 y 8 átomos de carbono que tiene un anillo sencillo (por ejemplo, ciclohexilo) o anillos condensados múltiples (por ejemplo, norbornilo). Los cicloalquilos preferidos incluyen ciclopentilo, ciclohexilo, norbornilo y similares.

45 “Heterocicloalquilo” se refiere a un grupo cicloalquilo C₃-C₈ de acuerdo con la definición anterior, en el que hasta 3 átomos de carbono se sustituyen por heteroátomos elegidos entre el grupo que consiste en O, S, NR, siendo definido R como hidrógeno o metilo. Los heterocicloalquilos preferidos incluyen pirrolidina, piperidina, piperazina, 1-metilpiperazina, morfolina y similares.

50 “Alquil C₁-C₆-cicloalquilo” se refiere a grupos alquilo C₁-C₆ que tienen un sustituyente de cicloalquilo, incluyendo ciclohexilmetilo, ciclopentilpropilo y similares.

55 “Alquil C₁-C₆-heterocicloalquilo” se refiere a grupos alquilo C₁-C₆ que tienen un sustituyente de heterocicloalquilo, incluyendo 2-(1-pirrolidinil)etilo, 4-morfolinmetilo, (1-metil-4-piperidinil)metilo y similares.

“Carboxi” se refiere al grupo -C(O)OH.

60 “Alquil C₁-C₆-carboxi” se refiere a grupos alquilo C₁-C₆ que tienen un sustituyente de carboxi, incluyendo 2-carboxietilo y similares.

“Acilo” se refiere al grupo -C(O)R donde R incluye “alquilo C₁-C₆”, “ariilo”, “heteroarilo”, “alquil C₁-C₆-ariilo” o “alquil C₁-C₆-heteroarilo”.

65 “Alquil C₁-C₆-acilo” se refiere a grupos alquilo C₁-C₆ que tienen un sustituyente de acilo, incluyendo 2-acetiletilo y similares.

“Aciloxi” se refiere al grupo -OC(O)R donde R incluye “alquilo C₁-C₆”, “ariilo”, “hetero-ariilo”, “alquil C₁-C₆-ariilo” o “alquil C₁-C₆-heteroarilo”.

ES 2 333 719 T3

“Alquil C₁-C₆-aciloxi” se refiere a grupos alquilo C₁-C₆ que tienen un sustituyente de aciloxi, incluyendo 2-(acetiloxi)etilo y similares.

5 “Alcoxi” se refiere al grupo -O-R donde R incluye “alquilo C₁-C₆” o “arilo” o “hetero-arilo” o “alquil C₁-C₆-arilo” o “alquil C₁-C₆-heteroarilo”. Los grupos alcoxi preferidos incluyen, por ejemplo, metoxi, etoxi, fenoxi y similares.

“Alquil C₁-C₆-alcoxi” se refiere a grupos alquilo C₁-C₆ que tienen un sustituyente de alcoxi, incluyendo 2-etoxietilo y similares.

10 “Alcoxycarbonilo” se refiere al grupo C(O)OR, donde R incluye H, “alquilo C₁-C₆” o “arilo” o “heteroarilo” o “alquil C₁-C₆-arilo” o “alquil C₁-C₆-heteroarilo”.

“Alquil C₁-C₆-alcoxycarbonilo” se refiere a grupos alquilo C₁-C₆ que tienen un sustituyente de alcoxycarbonilo, incluyendo 2-(benciloxycarbonil)etilo y similares.

15 “Aminocarbonilo” se refiere al grupo -C(O)NRR' donde cada R, R' incluye de forma independiente hidrógeno o alquilo C₁-C₆ o arilo o heteroarilo o “alquil C₁-C₆-arilo” o “alquil C₁-C₆-heteroarilo”.

20 “Alquil C₁-C₆-aminocarbonilo” se refiere a grupos alquilo C₁-C₆ que tienen un sustituyente de aminocarbonilo, incluyendo 2-(dimetilaminocarbonil)etilo y similares.

“Acilamino” se refiere al grupo -NRC(O)R' donde cada R, R' es de forma independiente hidrógeno o “alquilo C₁-C₆” o “arilo” o “heteroarilo” o “alquil C₁-C₆-arilo” o “alquil C₁-C₆-heteroarilo”.

25 “Alquil C₁-C₆-acilamino” se refiere a grupos alquilo C₁-C₆ que tienen un sustituyente de acilamino, incluyendo 2-(propionilamino)etilo y similares.

30 “Ureido” se refiere al grupo -NRC(O)NR'R" donde cada R, R', R" es de forma independiente hidrógeno, “alquilo C₁-C₆”, “alquenil C₂-C₆”, “alquinil C₂-C₆”, “cicloalquilo C₃-C₈”, “heterocicloalquilo”, “arilo”, “heteroarilo”, “alquil C₁-C₆-arilo” o “alquil C₁-C₆-heteroarilo”, “alquenil C₂-C₆-arilo”, “alquenil C₂-C₆-heteroarilo”, “alquinil C₂-C₆-arilo”, “alquinil C₂-C₆-heteroarilo”, “alquil C₁-C₆-cicloalquilo”, “alquil C₁-C₆-heterocicloalquilo” y donde R' y R", junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos, pueden formar opcionalmente un anillo heterocicloalquilo de 3-8 miembros.

35 “Alquil C₁-C₆-ureido” se refiere a grupos alquilo C₁-C₆ que tienen un sustituyente de ureido, incluyendo 2-(N-metilureido)etilo y similares.

40 “Carbamato” se refiere al grupo -NRC(O)OR' donde cada R, R' es de forma independiente hidrógeno, “alquilo C₁-C₆”, “alquenil C₂-C₆”, “alquinil C₂-C₆”, “cicloalquilo C₃-C₈”, “heterocicloalquilo”, “arilo”, “heteroarilo”, “alquil C₁-C₆-arilo” o “alquil C₁-C₆-heteroarilo”, “alquenil C₂-C₆-arilo”, “alquenil C₂-C₆-heteroarilo”, “alquinil C₂-C₆-arilo”, “alquinil C₂-C₆-heteroarilo”, “alquil C₁-C₆-cicloalquilo”, “alquil C₁-C₆-heterocicloalquilo”.

45 “Amino” se refiere al grupo -NRR' donde cada R, R' es de forma independiente hidrógeno o “alquilo C₁-C₆” o “arilo” o “heteroarilo” o “alquil C₁-C₆-arilo” o “alquil C₁-C₆-heteroarilo”, o “cicloalquilo”, o “heterocicloalquilo” y donde R y R', junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos, pueden formar opcionalmente un anillo heterocicloalquilo de 3-8 miembros.

50 “Alquil C₁-C₆-amino” se refiere a grupos alquilo C₁-C₆ que tienen un sustituyente de amino, incluyendo 2-(1-pirrolidinil)etilo y similares.

“Amonio” se refiere a un grupo cargado positivamente -N⁺RR'R", donde cada R, R', R" es de forma independiente “alquilo C₁-C₆” o “alquil C₁-C₆-arilo” o “alquil C₁-C₆-heteroarilo”, o “cicloalquilo”, o “heterocicloalquilo” y donde R y R', junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos, pueden formar opcionalmente un anillo heterocicloalquilo de 3-8 miembros.

55 “Halógeno” se refiere a átomos de fluro, cloro, bromo y yodo.

60 “Sulfoniloxi” se refiere a un grupo -OSO₂-R en el que R se selecciona entre H, “alquilo C₁-C₆”, “alquilo C₁-C₆” sustituido con halógenos, por ejemplo, un grupo -OSO₂-CF₃, “arilo”, “heteroarilo”, “alquil C₁-C₆-arilo” o “alquil C₁-C₆-heteroarilo”.

“Alquil C₁-C₆-sulfoniloxi” se refiere a grupos alquilo C₁-C₆ que tienen un sustituyente de sulfoniloxi, incluyendo 2-(metilsulfoniloxi)etilo y similares.

65 “Sulfonilo” se refiere a un grupo “-SO₂-R” en el que R se selecciona entre H, “arilo”, “heteroarilo”, “alquilo C₁-C₆”, “alquilo C₁-C₆” sustituido con halógenos, por ejemplo, un grupo -SO₂-CF₃, “alquil C₁-C₆-arilo” o “alquil C₁-C₆-heteroarilo”.

ES 2 333 719 T3

“Alquil C₁-C₆-sulfonilo” se refiere a grupos alquilo C₁-C₆ que tienen un sustituyente de sulfonilo, incluyendo 2-(metilsulfonil)etilo y similares.

5 “Sulfinilo” se refiere a un grupo “-S(O)-R” en el que R se selecciona entre H, “alquilo C₁-C₆”, “alquilo C₂-C₆” sustituido con halógenos, por ejemplo, un grupo -SO-CF₃, “arilo”, “heteroarilo”, “alquil C₁-C₆-arilo” o “alquil C₁-C₆-heteroarilo”.

10 “Alquil C₁-C₆-sulfinilo” se refiere a grupos alquilo C₁-C₆ que tienen un sustituyente de sulfinilo, incluyendo 2-(metilsulfinil)etilo y similares.

“Sulfanilo” se refiere a grupos -S-R donde R incluye “alquilo C₁-C₆” o “arilo” o “hetero-arilo” o “alquil C₁-C₆-arilo” o “alquil C₁-C₆-heteroarilo”. Los grupos sulfanilo preferidos incluyen metilsulfanilo, etilsulfanilo y similares.

15 “Alquil C₁-C₆-sulfanilo” se refiere a grupos alquilo C₁-C₆ que tienen un sustituyente de sulfanilo, incluyendo 2-(etilsulfanil)etilo y similares.

“Sulfonilamino” se refiere a un grupo -NRSO₂-R' donde cada R, R' es de forma independiente hidrógeno o “alquilo C₁-C₆” o “arilo” o “heteroarilo” o “alquil C₁-C₆-arilo” o “alquil C₁-C₆-heteroarilo”.

20 “Alquil C₁-C₆-sulfonilamino” se refiere a grupos alquilo C₁-C₆ que tienen un sustituyente de sulfonilamino, incluyendo 2-(etilsulfonilamino)etilo y similares.

“Sustituido o insustituido”: A menos que se limite a la definición del sustituyente individual, los grupos anteriores, como “alquilo”, “alquenilo”, “alquinilo”, “arilo” y “heteroarilo”, etc. los grupos pueden ser opcionalmente sustituidos 25 con entre 1 y 5 sustituyentes seleccionados entre el grupo que consiste en “alquilo C₁-C₆”, “alquenilo C₂-C₆”, “alquinilo C₂-C₆”, “cicloalquilo”, “heterocicloalquilo”, “alquil C₁-C₆-arilo”, “alquil C₁-C₆-heteroarilo”, “alquil C₁-C₆-cicloalquilo”, “alquil C₁-C₆-heterocicloalquilo”, “amino”, “amonio”, “acilo”, “aciloxi”, “acilamino”, “aminocarbo- nilo”, “alcoxycarbonilo”, “ureido”, “carbamato”, “arilo”, “heteroarilo”, “sulfinilo”, “sulfonilo”, “alcoxi”, “sulfanilo”, “halógeno”, “carboxi”, trihalometilo, ciano, hidroxilo, mercapto, nitro y similares. De forma alternativa, dicha susti- 30 tución podría comprender también situaciones en las que el sustituyente vecino ha sufrido el cierre del anillo, espe- cialmente cuando el sustituyente funcional vecinal está implicado, formándose así, por ejemplo, lactamas, lactonas, anhídridos cíclicos, también acetales, tioacetales, aminas formadas por el cierre del anillo, por ejemplo, en un intento para obtener un grupo protector.

35 “Sales o complejos farmacéuticamente aceptables” se refiere a sales o complejos de los compuestos especifica- dos más abajo de fórmula (I). Los ejemplos de tales sales incluyen, aunque sin limitación, a sales de adición de base formadas por la reacción de compuestos de fórmula (I) con bases orgánicas o inorgánicas tales como hidróxido, carbonato o bicarbonato de un catión metálico tales como los seleccionados entre el grupo que consiste en metales al- calinos (sodio, potasio o litio), metales alcalinos-térreos (por ejemplo, calcio o magnesio), o con una amina de alquilo 40 primaria, secundaria o terciaria orgánica. Las sales de amina derivadas de metilamina, dimetilamina, trimetilamina, etilamina, dietilamina, trietilamina, morfolina, N-Me-D-glucamina, N,N'-bis(fenilmetil)-1,2-etanodiamina, trometa- mina, etanolamina, dietanolamina, etilendiamina, N-metilmorfolina, procaína, piperidina, piperazina y similares están contempladas dentro del alcance de la presente invención.

45 También están comprendidas sales que se forman a partir de sales de adición de ácido formadas con ácidos inorgá- nicos (por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido nítrico y similares), así como sales formadas con ácidos orgánicos tales como ácido acético, ácido oxálico, ácido tartárico, ácido succínico, ácido málico, ácido fumárico, ácido maleico, ácido ascórbico, ácido benzoico, ácido tánico, ácido pamoico, ácido 50 algínico, ácido poliglútamico, ácido naftaleno-sulfónico, ácido naftaleno-disulfónico y ácido poli-galacturónico.

50 “Derivado farmacéuticamente activo” se refiere a cualquier compuesto que bajo la administración al receptor es capaz de proporcionar directamente o indirectamente, la actividad descrita en este documento.

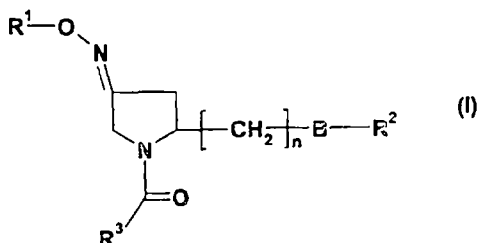
55 “Exceso enantiomérico” (ee) se refiere a los productos que se obtienen mediante una síntesis asimétrica, es decir, una síntesis que implica materiales de partida y/o reactivos no racémicos o una síntesis que comprenda al menos una etapa enantioselectiva, mediante la cual se obtiene un excedente de un enantiómero en el orden de al menos aproximadamente 52% de ee. En ausencia de una síntesis asimétrica se obtienen normalmente productos racémicos que mantienen, sin embargo, también una actividad como antagonistas de OT-R.

60 La expresión “parto prematuro” significa la expulsión del útero de un niño antes del final normal de la gestación, o más particularmente, el inicio del parto con borramiento y dilación de la cerviz antes de la semana 37 de gestación. Puede estar o no asociado con sangrado vaginal o ruptura de las membranas.

El término “dismenorrea” significa menstruación dolorosa.

65 El término “cesárea” significa una incisión a través de las paredes abdominales y uterina para la liberación de un feto.

Los compuestos de acuerdo con la presente invención son aquellos de fórmula I.



La presente invención también incluye los isómeros geométricos, las formas activas ópticas, enantiómeros, diastereómeros de compuestos de acuerdo con la fórmula (I), mezclas de éstos, así como sus racematos y también sales farmacéuticamente aceptables.

R^1 en la fórmula (I) se selecciona entre el grupo que comprende o que consiste en H y alquilo C_1 - C_6 sustituido o no sustituido. Preferiblemente R^1 es H o metilo.

B en la fórmula (I) se selecciona entre el grupo que consiste en $-COO$, $-CONR^4$, oxadiazol, tiadiazol o benzimidazol.

Así, R^4 se selecciona entre el grupo que comprende o que consiste en H o alquilo C_1 - C_6 sustituido o no sustituido, alquil C_1 - C_6 -arilo, alquil C_1 - C_6 -heteroarilo, arilo o heteroarilo. Preferiblemente, R^4 es H o alquilo C_1 - C_3 , como un grupo metilo o etilo.

R^2 en la fórmula (I) se selecciona entre el grupo que comprende o que consiste en hidrógeno, alquilo C_1 - C_6 sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, alquil C_1 - C_6 -arilo sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, alquil C_1 - C_6 -heteroarilo sustituido o no sustituido, alqueno C_2 - C_6 sustituido o no sustituido, alqueno C_2 - C_6 -heteroarilo sustituido o no sustituido, alqueno C_2 - C_6 sustituido o no sustituido, alqueno C_2 - C_6 -arilo sustituido o no sustituido, alqueno C_2 - C_6 -heteroarilo sustituido o no sustituido, cicloalquilo C_3 - C_6 sustituido o no sustituido, heterocicloalquilo sustituido o no sustituido, alquil C_1 - C_6 -cicloalquilo sustituido o no sustituido, alquil C_1 - C_6 -heterocicloalquilo sustituido o no sustituido, alquil C_1 - C_6 -carboxi sustituido o no sustituido, acilo, alquil C_1 - C_6 -acilo sustituido o no sustituido, alquil C_1 - C_6 -aciloxi sustituido o no sustituido, alquil C_1 - C_6 -alcoxi sustituido o no sustituido, alcocarbonilo, alquil C_1 - C_6 -alcocarbonilo sustituido o no sustituido, aminocarbonilo, alquil C_1 - C_6 -aminocarbonilo sustituido o no sustituido, alquil C_1 - C_6 -acilamino sustituido o no sustituido, alquil C_1 - C_6 -ureido sustituido o no sustituido, alquil C_1 - C_6 -amino sustituido o no sustituido, alquil C_1 - C_6 -sulfonilo sustituido o no sustituido, sulfonilo, alquilo C_1 - C_6 sulfonilo sustituido o no sustituido, sulfinilo, alquil C_1 - C_6 -sulfinilo sustituido o no sustituido, alquil C_1 - C_6 -sulfanilo sustituido o no sustituido, alquil C_1 - C_6 -sulfonilamino sustituido o no sustituido.

R^3 en la fórmula (I) se selecciona entre el grupo que comprende o que consiste en arilo sustituido o no sustituido y heteroarilo sustituido o no sustituido.

De forma alternativa, R^2 y R^4 en la fórmula (I) pueden formar, junto con el átomo de N al que están unidos, un anillo heterocicloalquilo saturado o insaturado de 5-8 miembros, sustituido o no sustituido, por ejemplo, un resto piperidinilo, piperazinilo o morfolino. Tal anillo puede fusionarse opcionalmente con un anillo arilo, heteroarilo, cicloalquilo o heterocicloalquilo.

n en la fórmula (I) es un número entero entre 1 y 3. Más preferido es 1 ó 2.

De acuerdo con una realización, R^3 en los compuestos de fórmula (I) es un grupo arilo no sustituido o sustituido (por ejemplo, un fenilo). Un ejemplo de un grupo arilo sustituido es un resto bifenilo o 2-metil-bifenilo.

De acuerdo con una realización más, B, o bien, es un éster- COO , o una amida $CONR^4$ o un oxadiazol.

De acuerdo con todavía una realización más, R^2 se selecciona entre el grupo que consiste en H, alquilo C_1 - C_6 sustituido o no sustituido, cicloalquilo de 3-8 miembros o R^2 sufre un cierre de anillo con R^4 para formar un resto morfolino sustituido o no sustituido.

De acuerdo con todavía una realización más, el derivado de pirrolidina de acuerdo con la fórmula (I) es aquel en el que R^1 es metilo, R^3 es un resto bifenilo, B es $-COO$, $CONR^4$ o un resto 1,2,4-oxadiazol.

Los compuestos de fórmula (I) pueden usarse como medicamentos.

Específicamente, los compuestos de fórmula (I) son adecuados para su uso en el tratamiento de trastornos tales como parto prematuro, nacimiento prematuro, dismenorrea y para parar el parto antes de la liberación por cesárea. Los compuestos de la presente invención son, en particular, útiles para el tratamiento de parto prematuro, nacimiento prematuro y dismenorrea.

Preferiblemente, los compuestos de acuerdo con la fórmula (I), solos o en una forma de una composición farmacéutica, son adecuados para la modulación de la(s) función(ones) de la oxitocina, permitiendo así específicamente el tratamiento y/o la prevención de trastornos que están mediados por el receptor de oxitocina. Dicha modulación implica preferiblemente la inhibición de la(s) función(ones) de OT-R, especialmente mediante la antagonización del receptor de oxitocina en mamíferos y, en particular, en seres humanos.

La actividad anormal o hiperactividad del receptor de oxitocina están frecuentemente implicadas en diversos trastornos incluyendo los trastornos anteriormente enumerados y los estados de enfermedad. Por eso, los compuestos de acuerdo con la invención pueden usarse para el tratamiento de trastornos modulando la función de OT-R o sus rutas. La modulación de la función de OT-R o sus rutas puede implicar la des-regulación y/o inhibición del receptor de oxitocina. Los compuestos de la invención pueden emplearse solos o en combinación con otros agentes farmacéuticos, por ejemplo, con otro modulador de OT-R.

Cuando se emplean como agentes farmacéuticos, los derivados de pirrolidina de la presente invención se administran normalmente en la forma de una composición farmacéutica. Por eso, las composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de Fórmula (I) y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable están también dentro del alcance de la presente invención. Cualquier persona experta en la técnica está al corriente de la variedad de dichos vehículos, diluyentes o excipientes adecuados para formular una composición farmacéutica.

Los compuestos de la invención, junto con un adyuvante, vehículo, diluyente o excipiente convencionalmente empleado, pueden formularse como composiciones farmacéuticas y sus administraciones unitarias y en dicha forma pueden emplearse como sólidos, tales como comprimidos o cápsulas rellenas, o líquidos tales como soluciones, suspensiones, emulsiones, elixires o cápsulas rellenas con el mismo, todas para uso oral, o en la forma de soluciones inyectables estériles para uso parenteral (incluyendo subcutáneo). Dichas composiciones farmacéuticas y sus formas de administración unitarias pueden comprender ingredientes en proporciones convencionales, con o sin otros compuestos activos o principios y dichas formas de administración unitarias pueden contener cualquier cantidad efectiva adecuada del ingrediente activo conmensurado con el intervalo de administración diario pretendido que se emplee.

Cuando se emplean como agentes farmacéuticos, los derivados de pirrolidina de esta invención se administran normalmente en la forma de una composición farmacéutica. Dichas composiciones pueden prepararse en las formas conocidas en la técnica farmacéutica y comprenden al menos un compuesto activo. Generalmente, los compuestos de esta invención se administran en una cantidad farmacéuticamente eficaz. La cantidad del compuesto realmente administrado será normalmente determinada por el médico, según las circunstancias relevantes, incluyendo la afección que se trate, la ruta de administración elegida, el compuesto real administrado, la edad, el peso y la respuesta del paciente concreto, la severidad de los síntomas del paciente y similares.

Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden administrarse mediante una diversidad de rutas incluyendo oral, rectal, transdérmica, subcutánea, intravenosa, intramuscular e intranasal. Dependiendo de la ruta de administración pretendida, los compuestos se formulan preferiblemente tanto como composiciones inyectables como orales. Las composiciones para la administración oral pueden tomar la forma de soluciones o suspensiones líquidas de relleno, o polvos de relleno. Más comúnmente, sin embargo, las composiciones se presentan en formas de administración unitarias para facilitar una administración precisa. La expresión "formas de administración unitarias" se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como administraciones unitarias para sujetos humanos y otros mamíferos, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de material activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado, junto con un excipiente farmacéutico adecuado. Las formas de administración unitarias típicas incluyen ampollas rellenas, premedidas o jeringas de las composiciones líquidas o píldoras, comprimidos, cápsulas o similares en el caso de composiciones sólidas. En dichas composiciones, el compuesto de pirrolidina es normalmente un componente minoritario (entre aproximadamente 0,1 y aproximadamente 50% en peso o preferiblemente entre aproximadamente 1 y aproximadamente 40% en peso) siendo el resto los diversos vehículos y adyuvantes de procesamiento útiles para formar la forma de administración deseada.

Las formas líquidas adecuadas para la administración oral pueden incluir un vehículo adecuado acuoso o no-acuoso con tampones, agentes de suspensión y de dispensación, colorantes, aromatizantes y similares. Las formas sólidas pueden incluir, para ejemplo, cualquiera de los siguientes ingredientes, o compuestos de una naturaleza similar: un aglomerante tal como celulosa microcristalina, goma de tragacanto o gelatina; un excipiente tal como almidón o lactosa, un agente de desintegración tal como ácido algínico, Primogel, o almidón de maíz; un lubricante tal como estearato de magnesio; un agente deslizante tal como dióxido de silicio coloidal; un agente edulcorante tal como sacarosa o sacarina; o un agente aromatizante tal como menta, salicilato de metilo o aromatizante de naranja.

Las composiciones inyectables se basan normalmente en una solución salina estéril inyectable o solución salina tamponada de fosfato u otros vehículos inyectables conocidos en la técnica. Como se menciona anteriormente, los derivados de pirrolidina de Fórmula (I) en dichas composiciones son normalmente un componente minoritario, frecuentemente en el intervalo entre 0,05 y 10% en peso, siendo el resto el vehículo inyectable y similares.

Los componentes anteriormente descritos para composiciones administradas oralmente o inyectables son meramente representativos. Otros materiales así como técnicas de procesamiento y similares se describen en la Parte 8 de (6).

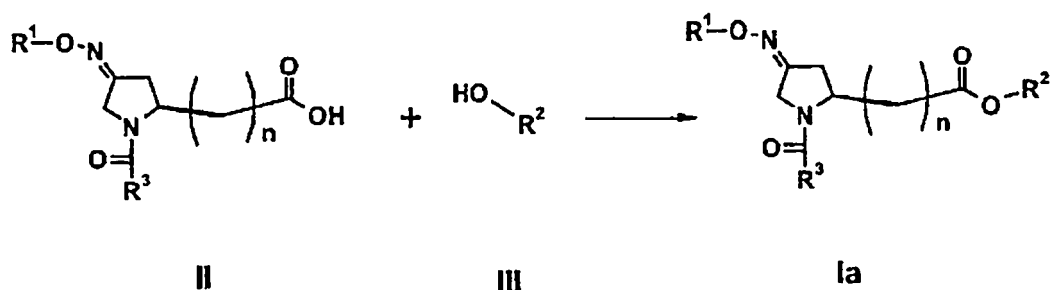
Los compuestos de esta invención también pueden administrarse en formas de liberación sostenida o a partir de sistemas de administración de fármacos de liberación sostenida. Una descripción de materiales de liberación sostenida representativos también puede encontrarse en (6).

Un objeto más de la presente invención es un procedimiento para preparar derivados de pirrolidina de acuerdo con la fórmula I.

a) Preparación de pirrolidinas de éster

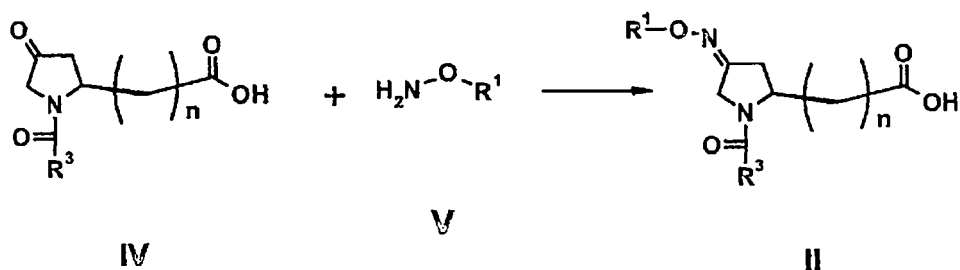
De acuerdo con un procedimiento, los derivados de pirrolidina de acuerdo con la fórmula general (1), en los que el sustituyente B es un éster, se preparan a partir de los correspondientes compuestos de ácido carboxílico II y alcohol III, en los que los sustituyentes R^1 - R^3 y n son como se definen antes, usando técnicas sintéticas estándar como se describen en este documento de aquí en adelante en los Ejemplos y como se muestra en el Esquema 1.

Esquema 1



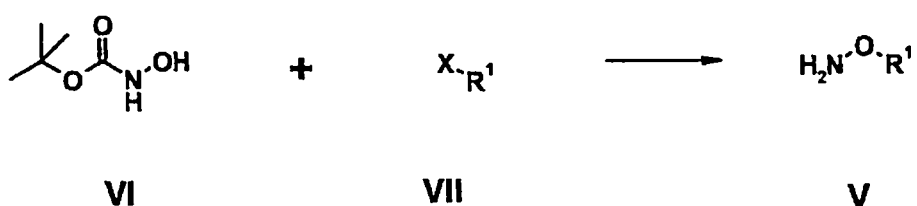
Los ácidos pirrolidin-2-carboxílicos II, en los que los sustituyentes R^1 , R^2 y n son como se definen antes, se preparan a partir de la correspondiente cetona IV e hidroxilaminas sustituidas V, en los que los sustituyentes R^1 , R^3 y n son como se definen antes, usando técnicas sintéticas estándar como se describen en este documento de aquí en adelante en los Ejemplos y como se muestra en el Esquema 2.

Esquema 2



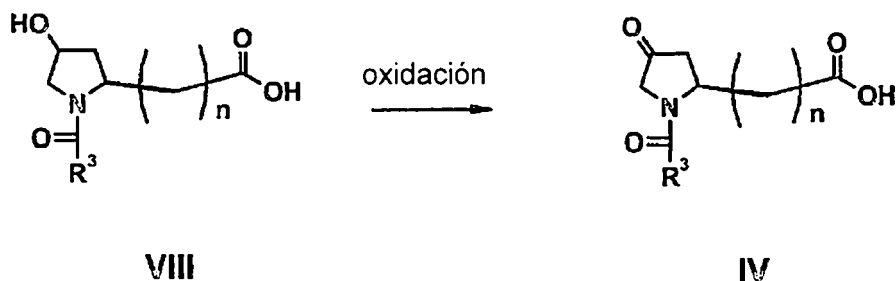
Los compuestos de fórmula V se obtienen a partir de fuentes comerciales o se preparan a partir de N-Boc-hidroxilamina VI y agentes alquilantes VII ($X = Cl, Br, I$), por técnicas sintéticas estándar, como se muestra en el Esquema 3.

Esquema 3



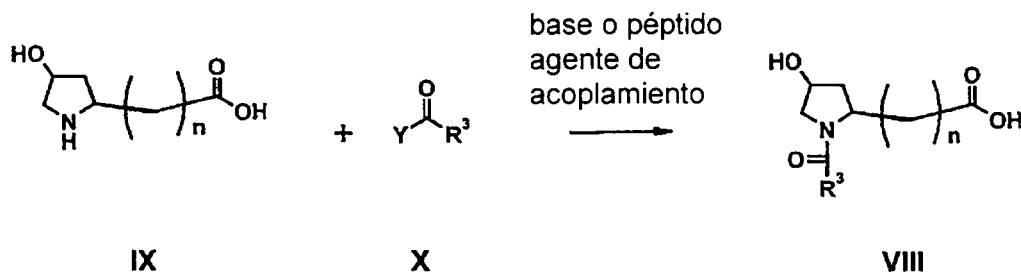
Los compuestos de cetona de fórmula general IV, en los que los sustituyentes R^3 y n son como se definen antes, pueden prepararse por la oxidación de compuestos alcohólicos de fórmula general VIII, en los que los sustituyentes R^3 y n son como se definen antes, como se describe en este documento de aquí en adelante en los Ejemplos y como se muestra en el Esquema 4.

Esquema 4



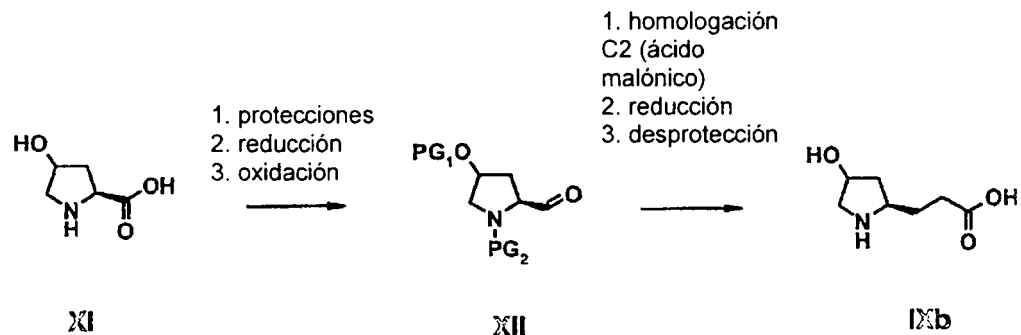
Los compuestos alcohólicos de fórmula general VIII, en los que los sustituyentes R^3 y n son como se definen antes, pueden prepararse por la reacción de un compuesto de fórmula general IX, en el que n es como se define anteriormente, con un agente acilante X de fórmula general $R^3\text{-CO-Y-}$ en el que R^3 es como se define anteriormente e Y es cualquier grupo saliente apropiado (por ejemplo, Cl, OH) como se ilustra en el Esquema 5.

Esquema 5



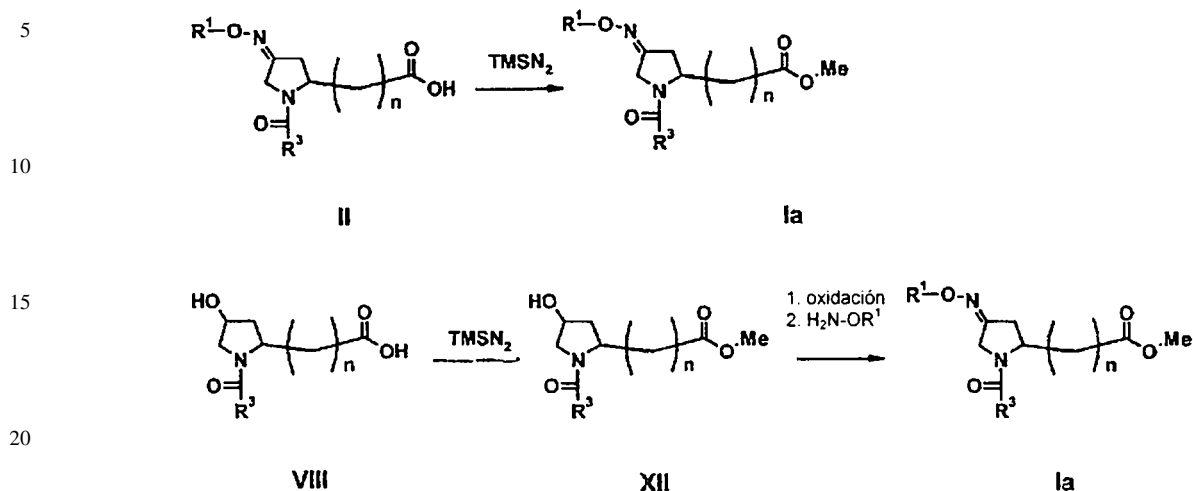
Los compuestos ácidos de fórmula general IX, en los que n es 1 están disponibles comercialmente (4-hidroxipirrolidin-2-ilo, IXa) y en los que n es 2 pueden prepararse por oxidación de 4-hidroxiprolina XI, comercialmente disponible, usando técnicas sintéticas estándar como se describen en este documento de aquí en adelante en los Ejemplos y como se muestra en el Esquema 6.

Esquema 6



De acuerdo con un procedimiento, los derivados de pirrolidina de acuerdo con la fórmula general (I), en los que el sustituyente B es un éster y R^2 es metilo pueden prepararse tanto a partir de los correspondientes compuestos de ácido carboxílico II como en unas etapas a partir del alcohol VIII, como se describe en este documento de aquí en adelante en los Ejemplos y como se muestra en el Esquema 7.

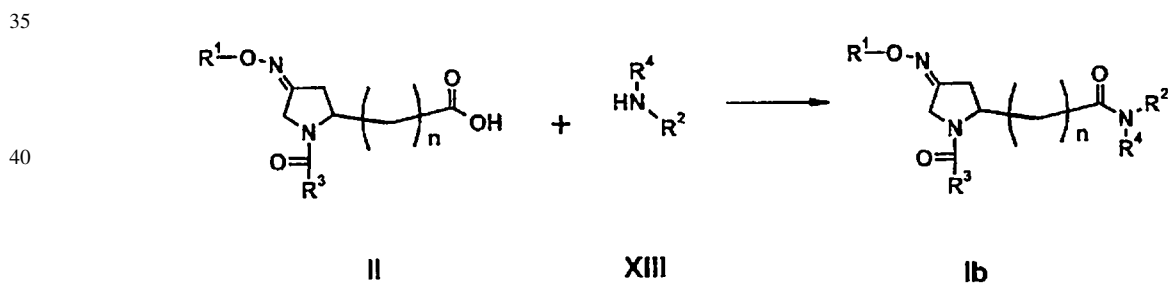
Esquema 7



b) Preparación de pirrolidinas de amida

De acuerdo con un procedimiento, los derivados de pirrolidina Ib de acuerdo con la fórmula general (I), en los que el sustituyente B es una amida, se preparan a partir de los correspondientes compuestos de ácido carboxílico II y amina XIII, en los que los sustituyentes R¹-R³ y n son como se definen antes, usando técnicas sintéticas estándar como se describen en este documento de aquí en adelante en los Ejemplos y como se muestra en el Esquema 8.

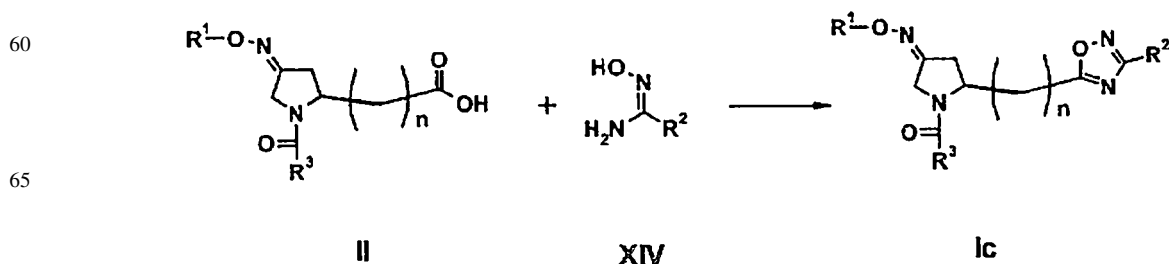
Esquema 8



c) Preparación de pirrolidinas de oxadiazol

De acuerdo con un enfoque sintético, los derivados de pirrolidina Ic de acuerdo con la fórmula general (I), en los que el sustituyente B es un 1,2,4-oxadiazol de fórmula, pueden prepararse a partir de los correspondientes compuestos de ácido carboxílico II y amidoximas XIV, en los que los sustituyentes R¹-R³ son como se definen antes, mediante protocolos de química en fase de disolución muy conocidos, tales como los descritos en los Ejemplos y como se muestra en el Esquema 9.

Esquema 9



10

15



25

30



40

45



55

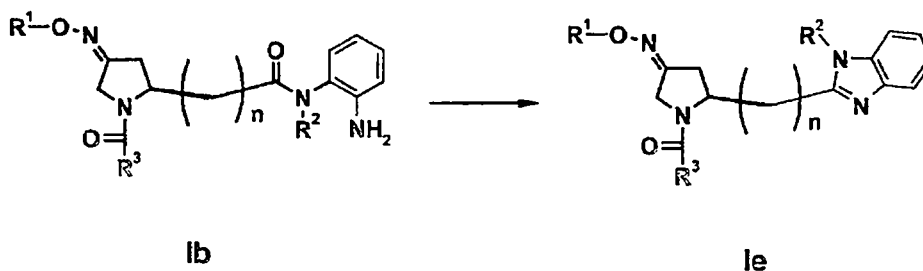
60



d) Preparación de pirrolidinas de benzimidazol

De acuerdo con un enfoque sintético, los derivados de pirrolidina Ie de acuerdo con la fórmula general (1), en los que el sustituyente B es un benzimidazol, pueden prepararse por ciclación de los correspondientes compuestos de anilida Ib, en los que los sustituyentes R¹-R³ son como se definen antes, tales como los descritos en los Ejemplos y como se muestra en el Esquema 14.

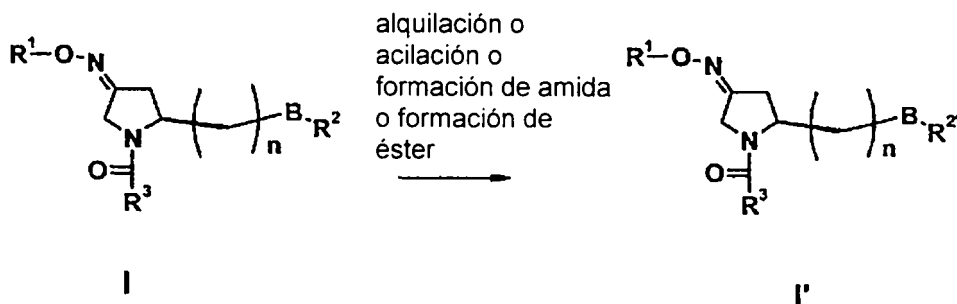
Esquema 14



e) Preparación de compuestos modificados y purificación

De acuerdo con otro procedimiento general, los compuestos de fórmula (I) pueden convertirse en compuestos alternativos de fórmula I', en los que el sustituyente R² se define como R², por técnicas de interconversión adecuadas de protección/desprotección/grupo funcional del sustituyente R² muy conocidas para los expertos en la técnica, como se muestra en el Esquema 15 y se describe en este documento de aquí en adelante en los Ejemplos.

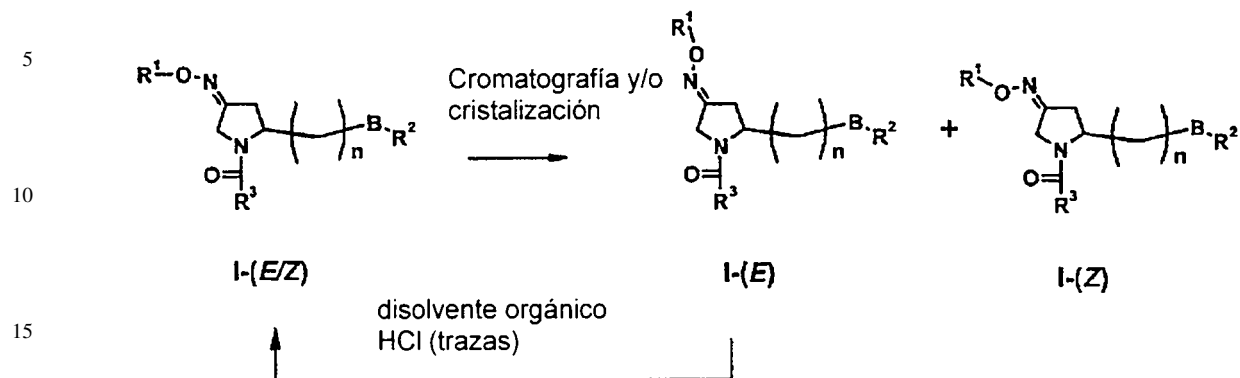
Esquema 15



Las secuencias de reacción expresadas en los Esquemas anteriores proporcionan compuestos enantioméricamente puros de fórmula I, si se usan materiales de partida enantioméricamente puros. Los enantiómeros (*R*)- y (*S*)- pueden obtenerse dependiendo de si se usan las formas (*R*)- o (*S*)- de compuestos comercialmente disponibles de formulas IX y XI como materiales de partida.

Sin embargo, las secuencias de reacción expresadas en los Esquemas anteriores proporcionan normalmente mezclas de isómeros (*E*)- y (*Z*)- con respecto a los sustituyentes en el doble enlace exocíclico del anillo de pirrolidina. En todos los casos estudiados, estos isómeros (*E*)/(*Z*) podrían separarse mediante técnicas de cromatografía estándar muy conocidas por los expertos en la técnica, tales como por cromatografía inversa de líquidos de alta resolución (HPLC) o cromatografía flash de gel de sílice (FC). De forma alternativa, tanto los isómeros (*E*)/(*Z*) podrían enriquecerse sucesivamente mediante cristalización selectiva en disolventes apropiados o mezclas de disolventes. La asignación de la configuración absoluta del doble enlace exocíclico se realizó usando técnicas de RMN muy descritas en la bibliografía ya que son conocidas por los médicos expertos en la técnica (para las asignaciones configuracionales de, por ejemplo, funcionalidades de oxima (véase, por ejemplo, E. Breitmaier, W. Voelter Carbon-13 NMR Spectroscopy, 3ª Ed, VCH, 1987, p. 240). Para incrementar los rendimientos globales del isómero preferido (normalmente el isómero (*Z*)), el isómero menos preferido (normalmente el isómero (*E*)) podría reciclarse mediante re-isomerización deliberada en disolventes orgánicos que contienen trazas de ácido, tales como HCl, seguido de nuevo por separación de (*E*)/(*Z*) a través de cromatografía y/o cristalización, como se ilustra en el Esquema 16.

Esquema 16



20 Si los métodos sintéticos generales anteriormente expuestos no son aplicables para obtener compuestos de acuerdo con la fórmula (I) y/o los intermedios necesarios para la síntesis de compuestos de fórmula I, deben usarse métodos adecuados de preparación conocidos por los expertos en la técnica. En general, las rutas de síntesis para cualquier compuesto individual de fórmula (I) dependerán de los sustituyentes específicos de cada molécula y de la disponibilidad de los intermedios necesarios; siendo apreciados de nuevo tales factores por los expertos ordinarios en la técnica. Para todos los métodos de protección y desprotección, véase Philip J. Kocienski, en "Protecting Groups", Georg Thieme Verlag Stuttgart, Nueva York, 1994 y, Theodora W. Greene y Peter G. M. Wuts en "Protective Groups of Organic Synthesis", Wiley-Interscience, 1991.

30 Los compuestos de esta invención pueden aislarse junto con moléculas de disolvente por cristalización a partir de la evaporación de un disolvente apropiado. Las sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables de los compuestos de fórmula I, que contienen un centro básico, pueden prepararse por una forma convencional. Por ejemplo, una disolución de la base libre puede tratarse con un ácido adecuado, tanto puro como en una disolución adecuada y la sal resultante puede aislarse por filtración o por evaporación bajo vacío del disolvente de reacción. Las sales de adición de base farmacéuticamente aceptables pueden obtenerse de una manera análoga tratando una disolución del compuesto de fórmula (I) con una base adecuada. Ambos tipos de sales pueden formarse o interconvertirse usando técnicas con resinas de intercambio iónico.

Ejemplos

40 La invención será ilustrada mediante los siguientes ejemplos que no se realizan como limitantes del alcance de la invención.

Los datos de HPLC, RMN y MS proporcionados en los Ejemplos descritos a continuación se obtuvieron como sigue. Las siguientes abreviaturas se usan en este documento de aquí en adelante en los ejemplos que acompañan: min (minuto), h (hora), g (gramo), mmol (milimol), p.f. (punto de fusión), eq (equivalentes), ml (mililitro), μ l (microlitros), Boc (butoxicarbonilo), CDCl_3 (cloroformo deuterado), CDI (carbonildi-imidazol), DIC (Di-isopropil-carbodi-imida), DMAP (4-Dimetil-amino-piridina), DMF (Dimetilformamida), DMSO (Dimetilsulfóxido), $\text{DMSO-}d_6$ (Dimetilsulfóxido deuterado), EDC (1-(3-Dimetil-amino-propil)-3-etilcarbodi-imida), HCl (Cloruro de ácido), HOBt (1-Hidroxibenzotriazol), K_2CO_3 (Carbonato de potasio), MgSO_4 (Sulfato de magnesio), NaHCO_3 (Bicarbonato sódico), NaOH (Hidróxido de sodio), Na_2SO_4 (Sulfato de sodio), NH_4Cl (Cloruro de amonio), NMM (N-metilmorfolina), Pd/C (Paladio sobre carbón), TBDMS (t-Butildimetilsililo) TFA (Ácido trifluoroacético).

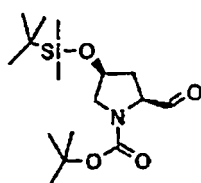
Los compuestos de la presente invención pueden sintetizarse de acuerdo con las diferentes rutas de síntesis proporcionadas anteriormente. Los siguientes ejemplos ilustran los métodos preferidos para sintetizar los compuestos de acuerdo con la fórmula (I) y para determinar sus actividades biológicas.

Intermedio 1

(2S,4R)-4-[[*terc*-butil(dimetil)silil]oxi]-2-formil-pirrolidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (cfr. Esquema 6, compuesto XII)

60

65



ES 2 333 719 T3

A una mezcla de (4*R*)-4-hidroxi-*L*-prolina comercial (75 g, 0,57 mol) en NaOH al 10% (11) se añadió (Boc)₂O (186 g, 0,855 mol) a 0°C con agitación. La reacción se dejó agitando a TA durante 10h y luego se lavó con éter de petróleo. La capa acuosa se acidificó con ácido cítrico a pH=4 y se extrajo con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera y se secaron sobre Na₂SO₄. El disolvente se eliminó bajo el vacío para dar (4*R*)-1-(*tert*-butoxicarbonil)-4-hidroxi-*L*-prolina (118 g) sin purificar como un líquido viscoso. Rendimiento: 89%

A una disolución de (4*R*)-1-(*tert*-butoxicarbonil)-4-hidroxi-*L*-prolina (100 g, 0,432 mol) en DMF seco (600 ml), a 0°C se añadió K₂CO₃ (179 g, 1,3 mol) seguido de yodoetano (101 g, 0,65 mol). Después de la agitación a TA durante 12h, se separó por filtración K₂CO₃ y se separó por destilación DMF bajo presión reducida. El residuo se diluyó con diclorometano (11), se lavó con salmuera y se secó. El disolvente se eliminó bajo el vacío para dar 2-etil-(2*S*,4*R*)-4-hidroxi-*proline*-1,2-dicarboxilato de 1-*tert*-butilo (103 g) sin purificar como un líquido amarillo. Rendimiento: 91%

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): 1,25 (t, 3H), 1,4 (d, 9H), 1,9-2,2 (m, 2H), 2,5 (m, 1H), 3,5 (m, 2H), 4,2 (m, 2H), 4,4-4,6 (m, 2H).

A una disolución de 2-etil-(2*S*,4*R*)-4-hidroxi-*proline*-1,2-dicarboxilato de 1-*tert*-butilo (100 g, 0,38 mol) en diclorometano seco (1,5l) a 25°C se añadió DMAP (47 g, 0,38 mol), seguido de trietilamina (39 g, 0,38 mol). A la anterior mezcla de reacción se añadió TBDMSCl (64 g, 0,42 mol) disuelto en diclorometano seco (200 ml) gota a gota en un periodo de 45 min. Después de la agitación a TA durante 20h, la mezcla de reacción se diluyó con agua y se separó la capa orgánica. La capa orgánica se lavó con ácido cítrico ac. al 5%, salmuera y se secó sobre Na₂SO₄, el disolvente se eliminó bajo el vacío para dar 2-etil-(2*S*,4*R*)-4-[[*tert*-butil-(dimetil)silil]oxi]-*proline*-1,2-dicarboxilato de 1-*tert*-butilo (140 g) como un líquido incoloro. Rendimiento: 97%

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): 0,0 (s, 6H), 0,8 (s, 9H), 1,2 (t, 3H), 1,45 (d, 9H), 1,7-1,9 (m, 2H), 2,2 (m, 1H), 3,3-3,5 (m, 2H), 4,2 (m, 2H), 4,5 (m, 1H).

A una suspensión de hidruro de litio y aluminio (10 g) en tetrahidrofurano seco (750 ml) a -40°C se añadió 2-etil-1-*tert*-butil-2-etil-(2*S*,4*R*)-4-[[*tert*-butil-(dimetil)silil]oxi]-*proline*-1,2-dicarboxilato de 1-*tert*-butilo (100 g, 0,289 mol) gota a gota en tetrahidrofurano (250 ml). Después de la agitación a -0°C durante 5h, la mezcla de reacción se inactivó con NaOH al 10% (40 ml). El residuo sólido separado por filtración, se lavó con tetrahidrofurano y el filtrado se evaporó bajo presión reducida para dar (2*S*,4*R*)-4-[[*tert*-butil-(dimetil)silil]oxi]-2-(hidroximetil)-*proline*-1-carboxilato de *tert*-butilo (85 g) como un líquido incoloro. Rendimiento: 94%

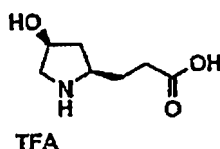
LCMS: ESI+: 232 (M-Boc+H)⁺, 276 (M-tBu+H)⁺, 354 (M+Na)⁺

¹H RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆): 0,05 (s, 6H), 0,78 (s, 9H), 1,33 (s, 9H), 1,65-2,00 (m, 2H), 3,20 (m, 2H), 3,38 (m, 2H), 3,70 (m, 1H), 4,30 (m, 1H), 4,60 (t, 1H).

A una mezcla de DMSO (53 g, 0,68 mol) y cloruro de oxalilo (43 g, 0,34 mol) en diclorometano seco (1,5l) a -78°C se añadió (2*S*,4*R*)-4-[[*tert*-butil-(dimetil)silil]oxi]-2-(hidroximetil)-*proline*-1-carboxilato de *tert*-butilo (75 g, 0,226 mol) gota a gota. Después de la agitación a -78°C durante 1h, se añadió trietilamina (158 ml, 1,13 mol) gota a gota y se calentó la mezcla de reacción lentamente a TA. La mezcla de reacción se diluyó con agua y se separó la capa orgánica. La capa orgánica se lavó con salmuera y se secó. El disolvente se eliminó bajo el vacío para dar (2*S*,4*R*)-4-[[*tert*-butil-(dimetil)silil]oxi]-2-formil-*proline*-1-carboxilato de *tert*-butilo (70 g) como un líquido amarillo palo. Rendimiento: 94%

Intermedio 2

Ácido 3-[(2*R*,4*R*)-4-hidroxi-*proline*-2-il]propanoico (cfr. Esquema 6, compuesto IXb)



A una mezcla de (2*S*,4*R*)-4-[[*tert*-butil-(dimetil)silil]oxi]-2-formil-*proline*-1-carboxilato de *tert*-butilo (Intermedio 1, 40 g, 0,12 mol) en piridina (250 ml) se añadió ácido malónico (32 g, 0,303 mol) seguido de pirrolidina (0,5 ml) y se calentó a 50°C durante 4h. El exceso de piridina se separó por destilación bajo presión reducida y el residuo se diluyó con agua. La mezcla se extrajo con diclorometano, se secó y se concentró bajo el vacío para dar el ácido 3-[(2*S*,4*R*)-1-(*tert*-butoxicarbonil)-4-[[*tert*-butil-(dimetil)silil]oxi]-*proline*-2-il]-acrilico (45 g). Rendimiento: 98%

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): 0,0 (s, 6H), 0,75 (s, 9H), 1,4 (d, 9H), 1,65 (m, 1H), 1,9 (m, 1H), 3,3-3,6 (m, 2H), 4,2-4,4 (m, 2H), 5,9-6,0 (m, 1H), 6,9-7,1 (m, 1H).

ES 2 333 719 T3

A una disolución del ácido 3-((2*S*,4*R*)-1-(*tert*-butoxicarbonil)-4-{{*tert*-butil(dimetil)silil}oxi}-pirrolidin-2-il)-acrílico (40 g, 0,107 mol) en DMF seco (250 ml) se añadió yodoetano (17,3 ml, 0,23 mol), seguido de K₂CO₃ (29 g, 0,22 mol). Después de la agitación a TA durante 4h, se separó por filtración K₂CO₃ y el disolvente se retiró bajo el vacío. El residuo se llevó a diclorometano, se lavó con salmuera y se secó. El disolvente se eliminó bajo el vacío para dar (2*S*,4*R*)-4-{{*tert*-butil(dimetil)silil}oxi}-2-[(1*E*)-3-etoxi-3-oxoprop-1-en-1-il]-pirrolidin-1-carboxilato de *tert*-butilo (35 g) como un líquido amarillo palo. Rendimiento: 82%.

Una mezcla de (2*S*,4*R*)-4-{{*tert*-butil(dimetil)silil}oxi}-2-[(1*E*)-3-etoxi-3-oxoprop-1-en-1-il]-pirrolidin-1-carboxilato de *tert*-butilo (35 g, 0,087 mmol) y Pd/C (3,5 g) en acetato de etilo (400 ml) se hidrogenó bajo una presión de 80 psi durante 2h. La mezcla de reacción se separó por filtración y el filtrado se concentró bajo el vacío para dar (2*R*,4*R*)-4-{{*tert*-butil(dimetil)silil}oxi}-2-(3-etoxi-3-oxopropil)pirrolidin-1-carboxilato de *tert*-butilo (28 g) como un líquido. Rendimiento: 80%

Una mezcla de (2*R*,4*R*)-4-{{*tert*-butil(dimetil)silil}oxi}-2-(3-etoxi-3-oxo-propil)pirrolidin-1-carboxilato de *tert*-butilo (25 g, 0,062 mol), NaOH (2,5 g, 0,062 mol), agua y metanol (100 ml cada uno) se agitó a TA durante 8h. La mezcla de reacción se evaporó bajo el vacío y el residuo se neutralizó con ácido cítrico al 5%. El producto se extrajo con diclorometano, se secó y se concentró. El producto sin purificar se purificó por cromatografía de columna sobre gel de sílice (éter de petróleo/diclorometano, 1:1) para dar el ácido 3-((2*R*,4*R*)-1-(*tert*-butoxicarbonil)-4-{{*tert*-butil(dimetil)silil}oxi}pirrolidin-2-il) propanoico (17 g) como un líquido. Rendimiento: 65%.

LCMS: ESI⁻: 372 (M-H)⁻; ESI⁺: 274 (M-Boc+H)⁺, 318 (M-tBu+H)⁺, 374 (M+H)⁺

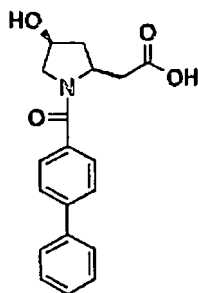
¹H RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆): 0,04 (s, 6H), 0,83 (s, 9H), 1,37 (s, 9H), 1,60-2,20 (m, 6H), 2,90-3,50 (m, 3H), 3,78 (m, 1H), 4,31 (s, 1H), 12,02 (s, 1H).

A una disolución del ácido 3-((2*R*,4*R*)-1-(*tert*-butoxicarbonil)-4-{{*tert*-butil(dimetil)silil}oxi}-pirrolidin-2-il)-propanoico (5,1 g, 13,65 mmol) en diclorometano (100 ml) a 0°C se añadieron ácido trifluoroacético (14 ml) y agua (3 ml). La mezcla de reacción se dejó calentarse y se agitó toda la noche. La mezcla de reacción se concentró al vacío para proporcionar el ácido 3-[(2*R*,4*R*)-4-hidroxipirrolidin-2-il]-propanoico como una sal de TFA (3,74 g). Rendimiento: 100%

¹H RMN (300 MHz, MeOD): 0,20 (m, 1 H), 0,55 (m, 3H), 0,95 (m, 2H), 1,60-2,00 (m, 2H), 2,05-2,40 (m, 1H), 2,96 (m, 1H).

Intermedio 3

Ácido (2*S*,4*R*)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-4-hidroxipirrolidin-2-il-acético (cfr. Esquema 5, compuesto VIII)



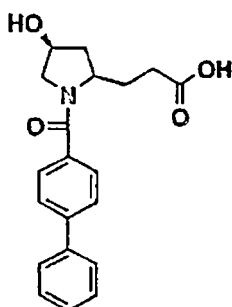
A una disolución del hidrocloreuro del ácido [(2*R*,4*R*)-4-hidroxipirrolidin-2-il]-acético comercial (5,03 g, 27,69 mmol), trietilamina (11,32 g, 110,77 mmol) en agua (16,5 ml) y tetrahidrofurano (25 ml) a 0°C bajo argón se añadió gota a gota una disolución del cloruro de 4-fenil-benzoilo en tetrahidrofurano seco (25 ml). La reacción se dejó calentarse a TA y se agitó toda la noche. La mezcla de reacción se concentró y el producto sin purificar se acidificó bajo agitación a 5°C añadiendo 100 ml de HCl 1N. La suspensión blanca se agitó a 5°C durante 10 minutos, se separó por filtración bajo el vacío, se aclaró con HCl y agua. Después de secar bajo el vacío el sólido blanco todavía húmedo se llevó hasta 14 ml de tetrahidrofurano y se sometió a reflujo hasta su disolución y se añadió hexano para precipitar el sólido. La totalidad se dejó enfriar a TA bajo agitación durante 5 minutos y se separó por filtración y se aclaró con hexano para dar el ácido [(2*S*,4*R*)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-4-hidroxipirrolidin-2-il]-acético como un polvo blanco (4,344 g). Rendimiento: 72%. Pureza HPLC: 84%

LCMS: ESI⁻: 280 (M-H-CO₂)⁻, 324 (M-H)⁻; ESI⁺: 326 (M+H)⁺

¹H RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆): 1,82 (m, 1H), 2,11 (m, 1H), 2,5 (m, 1H), 2,81 (dd, J = 15,6, J = 3,2, 1H), 3,3 (m, 1H), 3,51 (dd, J = 11, 7, J = 2,6, 1H), 4, 16 (m, 1H), 4, 40 (m, 1H), 7,30- 8,00 (m, 9H).

Intermedio 4

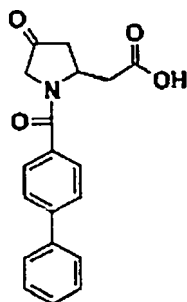
Ácido 3-[(2*R*,4*R*)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-4-hidroxipirrolidin-2-il]-propanoico (cfr. Esquema 5, compuesto VIII)



El mismo método que se empleó en la preparación del Intermedio 3, pero comenzando a partir del ácido 3-[(2*R*,4*R*)-4-hidroxipirrolidin-2-il]-propanoico (Intermedio 2), dio el compuesto del título. Rendimiento: 54%. Pureza HPLC: 96%

Intermedio 5

Ácido [(2*S*)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-4-oxopirrolidin-2-il]-acético (cfr. Esquema 4, compuesto IV)

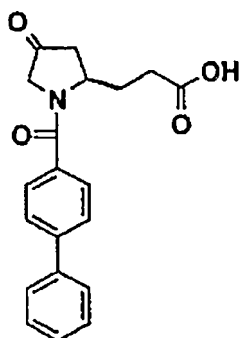


A una disolución del ácido (2*S*,4*R*)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-4-hidroxipirrolidin-2-il-acético (Intermedio 3, 4,00 g, 12,29 mmol) y trietilamina (8,70 g, 22,13 mmol) en 16 ml de DMSO seco a 2°C bajo argón se añadió una disolución de Pyr. SO₃ (3,52 g, 22,13 mmol) en 32 ml de DMSO seco y la reacción se calentó a TA y se agitó toda la noche. La reacción se inactivó añadiendo HCl 3N (70 ml) seguido de acetato de etilo y hexano. La fase acuosa se extrajo dos veces con acetato de etilo/hexano (1/1). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron bajo el vacío para dar el ácido [(2*S*)-1-(bifenil-4-il-carbonil)-4-oxopirrolidin-2-il]-acético como un aceite marrón (1,51 g). Rendimiento: 38%. Pureza HPLC: 76%

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): 2,50-3,27 (m, 4H), 3,67-4,28 (m, 2H), 5,16 (m, 1H), 7,30-7,60 (m, 9H).

Intermedio 6

Ácido 3-[(2*R*)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-4-oxopirrolidin-2-il]propanoico (cfr. Esquema 4, compuesto IV)



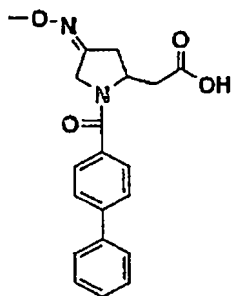
ES 2 333 719 T3

El mismo método que se empleó en la preparación del Intermedio 5, pero comenzando a partir del ácido 3-[(2*R*,4*R*)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-4-hidroxipirrolidin-2-il]-propanoico (Intermedio 4), dio el compuesto del título. Rendimiento: 20%. Pureza HPLC: 82% LCMS: ESI-: 336 (M-H)⁻; ESI+: 338 (M+H)⁺

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): 1,71-2,16 (m, 3H), 2,33-2,66 (m, 3H), 3,97 (m, 2H), 5,17 (m, 1H), 7,30-7,70 (m, 9H), 8,01 (s, 1H).

Intermedio 7

Ácido [(2*S*,4*EZ*)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-4-(metoxiimino)pirrolidin-2-il]-acético (cfr. Esquema 2, compuesto II)



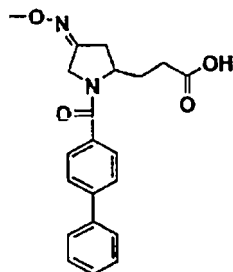
Una solución del ácido [(2*S*)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-4-oxopirrolidin-2-il]-acético (Intermedio 5, 1,50 g, 6,64 mmol), hidrocloreto del éter de metilo de hidroxilamina (0,58 g, 6,96 mmol) y trietilamina (1,62 ml, 11,60 mmol) en cloroformo (30 ml) se agitó a TA durante 2 días. El disolvente se eliminó bajo presión reducida y el residuo se llevó a acetato de etilo. La fase orgánica se lavó dos veces con una disolución de ácido cítrico al 10% y una vez con salmuera. La fase orgánica se secó después sobre MgSO₄, se filtró y se concentró para dar el ácido [(2*S*,4*EZ*)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-4-(metoxiimino)pirrolidin-2-il]acético como un sólido crema (1,14 g). Rendimiento: 45%. Pureza HPLC: 92%

LCMS: ESI-: 277 (M-OMe-CO₂-E), 307 (M-CO₂-H), 321 (M-OMe-H)-, 351 (M-H)⁻; ESI+: 335 (M-H₂O+H)⁺, 353 (M+H)⁺

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): 2,20-3,50 (m, 4H), 3,74 (s, 3H), 3,90-4,50 (m, 2H), 4,80 (m, 1H), 7,30-7,70 (m, 9H).

Intermedio 8

Ácido 3-[(2*R*,4*EZ*)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-4-(metoxiimino)pirrolidin-2-il]-propanoico (cfr. Esquema 2, compuesto II)



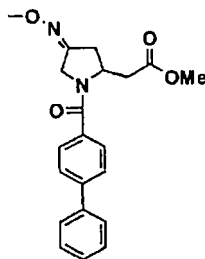
El mismo método que se empleó en la preparación del Intermedio 7, pero comenzando a partir del ácido 3-[(2*R*)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-4-oxopirrolidin-2-il]-propanoico (Intermedio 6), dio el compuesto del título. Rendimiento: 43%. Pureza HPLC: 92% LCMS: ESI-: 291 (M-OMe-CO₂-H)⁻, 335 (M-OMe-H)⁻, 365 (M-H)⁻; ESI+: 367 (M+H)⁺

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): 1,70-2,10 (m, 2H), 2,30-3,00 (m, 4H), 3,87 (s, 3H), 4,00-4,50 (m, 2H), 5,00 (m, 1H), 7,30-7,70 (m, 9H).

ES 2 333 719 T3

Ejemplo 1

[(2S,4EZ)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-4-(metoxiimino)pirrolidin-2-il]-acetato de metilo



A una disolución del ácido [(2S,4R)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-4-hidroxipirrolidin-2-il]-acético (Intermedio 3, 350 mg, 1,08 mmol) en tolueno-metanol (10 ml, 1-1) se añadió (diazometil)-trimetilsilano (2,76 ml, 2M en hexano). Después de 3 horas, la mezcla de reacción se concentró y se purificó por cromatografía de columna de gel de sílice (acetato de etilo) para dar [(2S,4R)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-4-hidroxipirrolidin-2-il]-acetato de metilo (256 mg). Rendimiento: 70%. Pureza HPLC: 98%

LCMS: ESI+: 340 (M+H)⁺

¹H RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆): 1,82 (m, 1H), 2,11 (m, 1H), 2,6 (dd, J = 15, 4, J = 8,3, 1H), 2,97 (dd, J = 15, 3, J = 3,4, 1H), 3,25 (d, J = 11, 4, 1H), 3,62 (s, 3H), 3,67 (dd, J = 11, 4, J = 3,4, 1H), 4,16 (m, 1H), 4,44 (m, 1H), 4,86 (d, J = 3,4, OH) 7,30-8,00 (m, 9H).

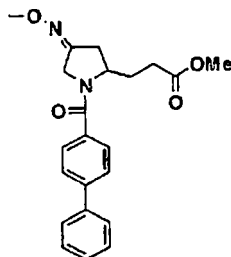
Una disolución de DMSO (31,4 μ l, 0,44 mmol) en diclorometano (1 ml) se añadió gota a gota a una disolución de cloruro de oxalilo (19 μ l, 0,22 mol) en diclorometano (2 ml) a -78°C bajo argón. Después de 15 min a -78°C, una disolución de [(2S,4R)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-4-hidroxipirrolidin-2-il]-acetato de metilo (50 mg, 0,15 mmol) en diclorometano (1 ml) se añadió gota a gota. La mezcla de reacción se agitó a -78°C durante 1 hora y se añadió trietilamina (0,102 mol, 0,74 mmol) y se dejó calentarse a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo, se lavó con agua después salmuera. La fase orgánica se secó (MgSO₄) y se concentró para proporcionar el [(2S)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-4-oxopirrolidin-2-il]-acetato de metilo (66 mg). Rendimiento: 100%. Pureza HPLC: 99% LCMS: ESI-: 336 (M-H)⁻; ESI+: 338 (M+H)⁺

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): 2,55 (m, 1H), 2,70 (m, 1H), 2,87 (m, 1H), 3,07 (m, 1H), 3,69 (s, 3H), 3,85 (m, 1H), 4,14 (m, 1H), 5,12 (m, 1H), 7,20-8,00 (m, 9H).

Una disolución de [(2S)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-4-oxopirrolidin-2-il]-acetato de metilo (43 mg, 0,13 mmol), hidrocloreto de éter de metilo de hidroxilamina (32 mg, 0,38 mmol) y trietilamina (53 μ l, 0,38 mmol) en cloroformo (3 ml) se agitó a 70°C durante 5 días. La mezcla de reacción se diluyó con diclorometano y se lavó con HCl 1N. La fase orgánica se secó (MgSO₄) y se concentró para proporcionar [(2S,4EZ)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-4-(metoxiimino)pirrolidin-2-il]-acetato de metilo (40 mg). Rendimiento: 62%. Pureza HPLC: 94%. LCMS: ESI+: 367 (M+H)⁺ ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): 2,66 (m, 3H), 2,95 (m, 1H), 3,67 (s, 3H), 3,82 (s, 3H), 4,14 (m, 1H), 4,30 (m, 1H), 5,01 (m, 1H), 7,20-8,00 (m, 9H).

Ejemplo 2

3-[(2R,4EZ)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-4-(metoxiimino)pirrolidin-2-il]-propanoato de metilo



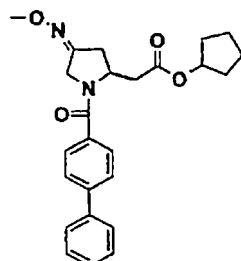
A una disolución del ácido 3-[(2R,4EZ)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-4-(metoxiimino)pirrolidin-2-il]-propanoico (Intermedio 8, 20 mg, 0,05 mmol) en tolueno-metanol (1 ml, 3-1) se añadió (diazometil)-trimetilsilano (0,110 ml, 2N en hexano). Después de 3 horas, la mezcla de reacción se concentró y se purificó por cromatografía de columna de gel de sílice (acetato de etilo) para dar 3-[(2R,4EZ)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-4-(metoxiimino)pirrolidin-2-il]-propanoato de metilo (20 mg). Rendimiento: 96%. Pureza HPLC: 94% LCMS: ESI+: 381 (M+H)⁺

ES 2 333 719 T3

^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): 2,01 (m, 2H), 2,20-3,00 (m, 4H), 3,69 (s, 3H), 3,86 (s, 3 H), 4,31 (m, 2H), 4,97 (m, 1H), 7,20-7,75 (m, 9H).

5 Ejemplo 3

[(2S,4EZ)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-4-(metoxiimino) pirrolidin-2-il]-acetato de ciclopentilo

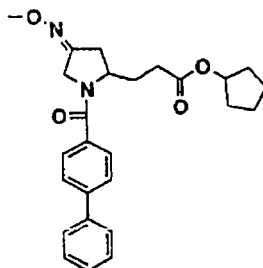


A una disolución del ácido [(2S,4E)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-4-(metoxiimino)-pirrolidin-2-il]-acético (Intermedio 7, 25 mg, 0,07 mmol) en diclorometano (1 ml) se añadieron EDC (14 mg, 0,07 mmol), DMAP (3 mg, 0,02 mmol) y ciclopentanol (6 mg, 0,07 mmol). La mezcla de reacción se agitó toda la noche. La fase orgánica se lavó con NH_4Cl , NaHCO_3 después salmuera. La fase orgánica se secó (MgSO_4) y se concentró para proporcionar [(2S,Z)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-4-(metoxiiminolpirrolidin-2-il]-acetato de ciclopentilo (25 mg). Rendimiento: 78%. Pureza HPLC: 94% LCMS: ESI+: 421 ($\text{M}+\text{H}$)⁺

^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): 1,50-2,01 (m, 8H), 2,50-3,10 (m, 4H), 3,85 (s, 3H), 4,25 (m, 2H), 5,18 (m, 1H), 5,30 (m, 1H), 7,20-7,75 (m, 9H).

30 Ejemplo 4

[(2R,4EZ)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-4-(metoxiimino)-pirrolidin-2-il]-propanoato de ciclopentilo

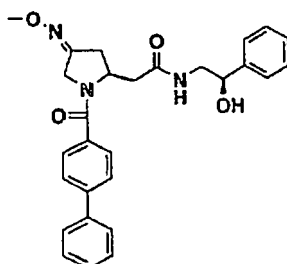


El mismo método que se empleó en la preparación del Ejemplo 3, pero comenzando a partir del ácido 3-[(2R,4E)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-4-(metoxiimino) pirrolidin-2-il]-propanoico (Intermedio 8), dio el compuesto del título. Rendimiento: 81%. Pureza HPLC: 92% LCMS: ESI+: 420 ($\text{M}-\text{Me}+\text{H}$)⁺, 435 ($\text{M}+\text{H}$)⁺

^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): 1,50-2,01 (m, 10H), 2,20-3,00 (m, 4H), 3,86 (s, 3 H), 4,31 (m, 2H), 4,92 (m, 1H), 5,16 (m, 1H), 7,20-7,75 (m, 9H).

Ejemplo 5

2-[(2S,4EZ)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-4-(metoxiimino)pirrolidin-2-il]-N-[(2S)-2-hidroxi-2-feniletil]-acetamida



ES 2 333 719 T3

A una disolución del ácido [(2*S*,4*EZ*)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-4-(metoxiimino)pirrolidin-2-il]-acético (Intermedio 7,25 mg, 0,07 mmol) en tetrahidrofurano (1 ml) a -25°C se añadieron NMM (18 mg, 0,18 mmol) seguido de clorofor-
miato de isobutilo (10 mg, 0,07 mmol).

La mezcla de reacción se agitó 10 min, luego una disolución de (S)-2-amino-1-feniletanol (10 mg, 0,07 mmol) en tetrahidrofurano (1 ml). La reacción se dejó calentarse a temperatura ambiente y se agitó toda la noche. Se añadió di-
clorometano y la fase orgánica se lavó con NH₄Cl, NaHCO₃, después salmuera. La fase orgánica se secó (MgSO₄) y se
concentró para proporcionar 2-[(2*S*,4*EZ*)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-4-(metoxiimino)-pirrolidin-2-il]-N-[(2*S*)-2-hidroxi-
2-feniletil]-acetamida (35 mg).

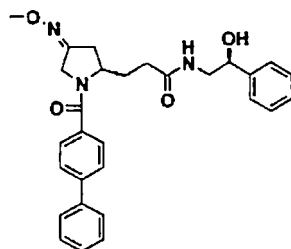
Rendimiento: 94%. Pureza HPLC: 90%

LCMS: ESI-: 470 (M-H)⁻; ESI+: 422 (M-H₂O-MeOH+H)⁺, 454 (M-H₂O+H)⁺, 472 (M+H)⁺

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): 2,66 (m, 3H), 2,88 (m, 2H), 3,17 (m, 1H), 3,82 (s, 3 H), 4,14 (m, 1H), 4,40 (m, 1H),
4,76 (m, 1H), 5,10 (m, 1H), 7,20-7,75 (m, 14H).

Ejemplo 6

3-[(2*R*,4*EZ*)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-4-(metoxiimino)pirrolidin-2-il]-N-[(2*S*)-2-hidroxi-2-feniletil]propanamida

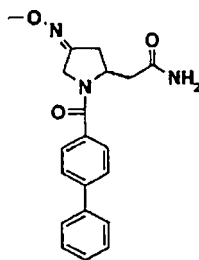


El mismo método que se empleó en la preparación del Ejemplo 5, pero comenzando a partir del ácido 3-[(2*R*,4*EZ*)-
1-(bifenil-4-ilcarbonil)-4-(metoxiimino)pirrolidin-2-il]-propanoico (Intermedio 8), dio el compuesto del título. Rend-
imiento: 52%. Pureza HPLC: 95% LCMS: ESI-: 484 (M-H), ESI+: 436 (M-H₂O-MeOH+H)⁺, 468 (M-H₂O+H)⁺, 486
(M+H)⁺

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): 1,88 (m, 2H), 2,47 (m, 3H), 2,87 (m, 1H), 3,49 (m, 2H), 3,85 (s, 3H), 4,14 (m, 1H),
4,38 (m, 1H), 4,67 (m, 1H), 4,96 (m, 1H), 7,20-7,75 (m, 14H).

Ejemplo 7

2-[(2*S*,4*EZ*)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-4-(metoxiimino)pirrolidin-2-il]-acetamida



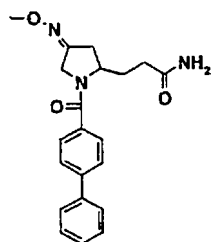
A una disolución del ácido [(2*S*,4*EZ*)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-4-(metoxiimino)-pirrolidin-2-il]-acético (Intermedio
7,50 mg, 0,14 mmol) en tetrahidrofurano (4 ml) se añadieron HOBt (29 mg, 0,21 mmol), EDC (41 mg, 0,21 mmol),
DMAP (2 mg, 0,01 mmol) seguido de amoníaco en dioxano (0,425 ml, 2M, 0,21 mmol). La mezcla de reacción se agitó
toda la noche. Se añadió acetato de etilo y la fase orgánica se lavó con ácido cítrico 5%, NH₄Cl, NaHCO₃ después
salmuera. La fase orgánica se secó (MgSO₄) y se concentró para proporcionar 2-[(2*S*,4*EZ*)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-
4-(metoxiimino)pirrolidin-2-il]-acetamida (40 mg). Rendimiento: 81%. pureza HPLC: 93% LCMS: ESI+: 320 (M-
MeOH+H)⁺, 374 (M+Na)⁺

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): 1,90 (m, 2H), 2,60-3,05 (m, 4H), 3,83 (s, 3H), 4,05-4,50 (m, 2H), 5,05 (m, 1H),
7,20-7,75 (m, 9H).

ES 2 333 719 T3

Ejemplo 8

3-[(2*R*,4*EZ*)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-4-(metoxiimino)pirrolidin-2-il]-propanamida



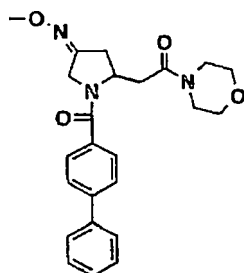
El mismo método que se empleó en la preparación del Ejemplo 7, pero comenzando a partir del ácido 3-[(2*R*,4*EZ*)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-4-(metoxiimino)pirrolidin-2-il]-propanoico (Intermedio 8), dio el compuesto del título. Rendimiento: 83%. Pureza HPLC: 90%

LCMS: ESI+: 334 (M-MeOH+H)⁺, 351 (M-Me+H)⁺, 366 (M+H)⁺

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): 1,84 (m, 2H), 2,20-2,85 (m, 4H), 3,83 (s, 3H), 4,05-4,50 (m, 2H), 4,98 (m, 1H), 7,20-7,75 (m, 9H).

Ejemplo 9

O-metiloxima de (3*EZ*,5*S*)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-5-(2-morfolin-4-il-2-oxoetil)-pirrolidin-3-ona

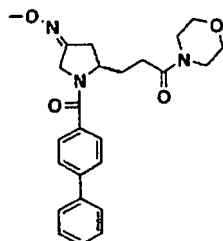


El mismo método que se empleó en la preparación del Ejemplo 7, pero comenzando a partir del ácido [(2*S*,4*EZ*)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-4-(metoxiimino)pirrolidin-2-il]-acético (Intermedio 7) y morfolina, dio el compuesto del título. Rendimiento: 98%. Pureza HPLC: 100% LCMS: ESI+: 390 (M-MeOH+H)⁺, 422 (M+H)⁺

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): 2,50-3,15 (m, 4H), 3,30-3,75 (m, 8H), 3,84 (s, 3H), 4,10 (m, 1H), 4,42 (m, 1H), 4,99 (m, 1H), 7,30-7,75 (m, 9H).

Ejemplo 10

O-metiloxima de (3*EZ*,5*R*)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-5-(3-morfolin-4-il-3-oxopropil)-pirrolidin-3-ona



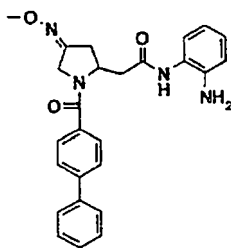
El mismo método que se empleó en la preparación del Ejemplo 7, pero comenzando a partir del ácido 3-[(2*R*,4*EZ*)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-4-(metoxiimino)pirrolidin-2-il]-propanoico (Intermedio 8) y morfolina, dio el compuesto del título. Rendimiento: 97%. Pureza HPLC: 96% LCMS: ESI+: 404 (M-MeOH+H)⁺, 421 (M-Me+H)⁺, 436 (M+H)⁺

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): 1,70-2,95 (m, 6H), 3,30-3,75 (m, 8H), 3,84 (s, 3H), 4,10 (m, 1H), 4,42 (m, 1H), 4,99 (m, 1H), 7,30-7,75 (m, 9H).

ES 2 333 719 T3

Ejemplo 11

N-(2-aminofenil)-2-[(2*S*,4*EZ*)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-4-(metoxiimino)pirrolidin-2-il]-acetamida



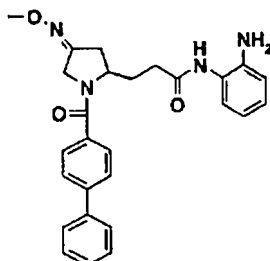
A una disolución del ácido [(2*S*,4*EZ*)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-4-(metoxiimino)-pirrolidin-2-il]-acético (Intermedio 7,30 mg, 0,09 mmol), 1,2-bencenodiamina (9 mg, 0,09 mmol) y DMAP (16 mg, 0,13 mmol) en diclorometano (2 ml) a 0°C se añadió EDC (16 mg, 0,09 mmol). La reacción se dejó calentarse a temperatura ambiente y se agitó durante 2 días. El disolvente se eliminó al vacío y el producto sin purificar se purificó por cromatografía de columna de gel de sílice (acetato de etilo/ciclohexano, 80:20) para proporcionar *N*-(2-aminofenil)-2-[(2*S*,4*EZ*)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-4-(metoxiimino)pirrolidin-2-il]-acetamida (26 mg). Rendimiento: 63%. pureza HPLC: 90%

LCMS: ESI⁻: 441 (M-H)⁻; ESI⁺: 443 (M+H)⁺, 465 (M+Na)⁺

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): 2,55-3,20 (m, 4H), 3,82 (s, 3H), 4,11 (m, 1H), 4,49 (m, 1H), 5,37 (m, 1H), 7,10 (m, 2H), 7,30-7,75 (m, 11H).

Ejemplo 12

N-(2-aminofenil)-3-[(2*R*,4*EZ*)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-4-(metoxiimino)pirrolidin-2-il]-propanamida

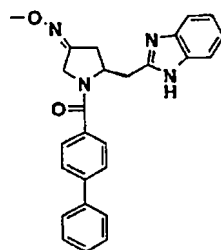


El mismo método que se empleó en la preparación del Ejemplo 11, pero comenzando a partir del ácido 3-[(2*R*,4*EZ*)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-4-(metoxiimino)pirrolidin-2-il]-propanoico (Intermedio 8), dio el compuesto del título. Rendimiento: 54%. Pureza HPLC: 100% LCMS: ESI⁻: 455(M-H)⁻; ESI⁺: 44,2 (M-Me+H)⁺, 457 (M+H)⁺, 479 (M+Na)⁺

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): 1,50-3,00 (m, 6H), 3,81 (s, 3H), 4,13 (m, 1H), 4,33 (m, 1H), 5,08 (m, 1H), 6,74 (m, 1H), 6,91 (m, 1H), 7,30-7,65 (m, 11H).

Ejemplo 13

O-metiloxima de (3*EZ*,5*S*)-5-(1*H*-benzimidazol-5-ilmetil)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-pirrolidin-3-ona



ES 2 333 719 T3

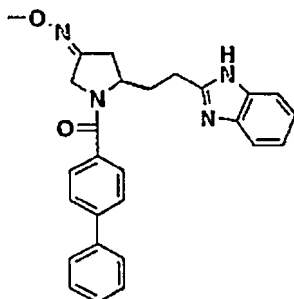
Una disolución de N-(2-aminofenil)-2-[(2S,4EZ)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-4-(metoxiimino)-pirrolidin-2-il]-acetamida (Ejemplo 11, 21 mg, 0,05 mmol) y ácido acético (0,1 ml) en diclorometano (1 ml) se agitó toda la noche. La fase orgánica se lavó con NaHCO₃, la fase orgánica se secó (MgSO₄) y se concentró para proporcionar la O-metiloxima de (3EZ,5S)-5-(1H-benzimidazol-2-ilmetil)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-pirrolidin-3-ona (14 mg). Rendimiento: 65%. Pureza HPLC: 93%

LCMS: ESI⁻: 423 (M-H)⁻; ESI⁺: 393 (M-MeOH+H)⁺, 465 (M+Na)⁺

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): 2,98 (m, 2H), 3,45 (m, 2H), 3,82 (s, 3 H), 4,18 (m, 1H), 4,44 (m, 1H), 5,35 (m, 1H), 7,18 (m, 2H), 7,30-7,75 (m, 1 1H).

Ejemplo 14

O-metiloxima de (3EZ,5R)-5-[2-(1H-benzimidazol-2-il)etil]-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-pirrolidin-3-ona



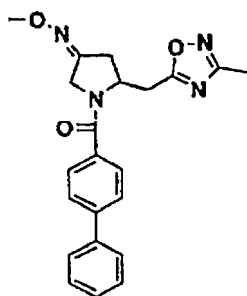
El mismo método que se empleó en la preparación del Ejemplo 11, pero comenzando a partir de N-(2-aminofenil)-3-[(2R,4EZ)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-4-(metoxi imino)-pirrolidin-2-il]-propanamida (Ejemplo 12), dio el compuesto del título. Rendimiento: 51%. Pureza HPLC: 89%

LCMS: ESI⁻: 437 (M-H)⁻; ESI⁺: 439 (M+H)⁺

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): 2,00-3,35 (m, 6H), 3,84 (s, 3 H), 4,05-4,55 (m, 2H), 4,99 (m, 1H), 7,15-7,75 (m, 13H).

Ejemplo 15

O-metiloxima de (3Z,5S)-1-(bifenil-4-ilcarbonil-5-[(3-metil-1,2,4-oxadiazol-5-il)metil] pirrolidin-3-ona



A una disolución del ácido [(2S,4EZ)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-4-(metoxiimino)pirrolidin-2-il]-acético (Intermedio 7,50 mg, 0,14 mmol) en diclorometano (3 ml) se añadió N'-hidroxietanimidamida (12 mg, 0,16 mmol) seguido de DIC (36 mg, 0,28 mmol). La mezcla de reacción se agitó 1h30, el precipitado se filtró y la disolución se concentró al vacío. Se añadió piridina (1 ml) y la mezcla de reacción se agitó a reflujo toda la noche. El disolvente se eliminó y se añadió diclorometano. La fase orgánica se lavó con HCl y luego NaHCO₃. La fase orgánica se secó (MgSO₄), se concentró y se purificó sobre cromatografía de columna de gel de sílice (acetato de etilo/ciclohexano, 40:60) para proporcionar la O-metiloxima de (3EZ,5S)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-5-[(3-metil-1, 2,4-oxadiazol-5-il)-metil-pirrolidin-3-ona (56 mg). Rendimiento: 91%. Pureza HPLC: 90%

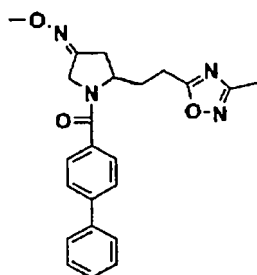
LCMS: ESI⁻: 389 (M-H)⁻; ESI⁺: 359 (M-MeOH+H)⁺, 391 (M+H)⁺

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): 2,39 (s, 3H), 2,65-3,10 (m, 2H), 3,27 (m, 2H), 3 83 (s, 3 H), 4,20 (m, 2H, 5,15 (m, 1H), 7,30-7,75 (m, 9H).

ES 2 333 719 T3

Ejemplo 16

O-metiloxima de (3EZ,5R)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-5-[2-(3-metil-1,2,4-oxadiazol-5-il)-etil]pirrolidin-3-ona

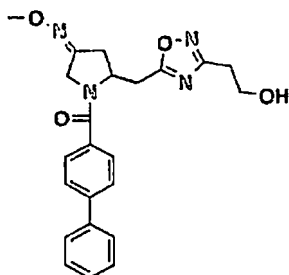


El mismo método que se empleó en la preparación del Ejemplo 15, pero comenzando a partir del ácido 3-[(2R,4EZ)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-4-(metoxiimino)pirrolidin-2-il]-propanoico (Intermedio 8), dio el compuesto del título. Rendimiento: 81%. Pureza HPLC: 85% LCMS: ESI+: 373 (M-MeOH+H)⁺, 405 (M+H)⁺

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): 2,00-3,10 (m, 6H), 2,16 (s, 3H), 3,85 (s, 3H), 4,05-4,55 (m, 2H), 5,05 (m, 1H), 7,30-7,75 (m, 9H).

Ejemplo 17

O-metiloxima de (3EZ,5S)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-5-[[3-(2-hidroxietil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] metil]pirrolidin-3-ona

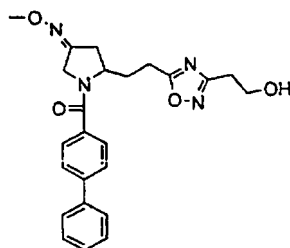


A una disolución del ácido [(2S,4EZ)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-4-(metoxiimino)pirrolidin-2-il]-acético (Intermedio 7, 50 mg, 0,14 mmol) en tetrahidrofurano (2 ml) se añadió CDI (37 mg, 0,23 mmol). La mezcla de reacción se agitó 1h30, una disolución de N'-3-dihidroxi-propanimidamida (16 mg, 0,16 mmol), piridina (34 ml, 0,14 mmol) en tetrahidrofurano se añadió después y la mezcla de reacción se agitó a reflujo toda la noche. El disolvente se eliminó y se añadió acetato de etilo. La fase orgánica se lavó con ácido cítrico al 5%, NH₄Cl, NaHCO₃ después salmuera. La fase orgánica se secó (MgSO₄), se concentró y se purificó sobre cromatografía de columna de gel de sílice (acetato de etilo) para proporcionar la *O*-metiloxima de (3EZ,5S)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-5-[[3-(2-hidroxietil)-1,2,4-oxadiazol-5-il]-metil]pirrolidin-3-ona (19 mg). Rendimiento: 27%. Pureza HPLC: 94% LCMS: ESI-: 419 (M-H)⁻; ESI+: 389 (M-MeOH+H)⁺, 421 (M+H)⁺

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): 2,70-3,50 (m, 6H), 3,82 (s, 3H), 3,94 (m, 2H), 4,11 (m, 1H), 4,31 (m, 1H), 5,30 (m, 1H), 7,30-7,75 (m, 9H).

Ejemplo 18

O-metiloxima de (3EZ,5R)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-5-[2-[3-(2-hidroxietil)-1,2,4-oxadiazol-5-il]-etil]pirrolidin-3-ona



ES 2 333 719 T3

El mismo método que se empleó en la preparación del Ejemplo 17, pero comenzando a partir del ácido 3-[(2*R*,4*EZ*)-1-(bifenil-4-ilcarbonyl)-4-(metoxiimino)pirrolidin-2-il]-propanoico (Intermedio 8), dio el compuesto del título. Rendimiento: 37%. Pureza HPLC: 96%

LCMS: ESI+: 403 (M-MeOH+H) 420 (M-Me+H)⁺, 435 (M+H)⁺

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): 2,00-3,10 (m, 8H), 3,85 (s, 3 H), 3,97 (m, 2H), 4,05-4,55 (m, 2H), 5,03 (m, 1H), 7,30-7,75 (m, 9H).

Ejemplo 19

Preparación de una formulación farmacéutica

Los siguientes ejemplos de formulación ilustran composiciones farmacéuticas representativas de acuerdo con la presente invención.

Formulación 1

Comprimidos

Un compuesto de pirrolidina de fórmula (I) se mezcló como un polvo seco con un aglomerante de gelatina seco en una relación de aproximadamente 1:2 peso. Una cantidad minoritaria de estearato de magnesio se añade como lubricante. La mezcla se conforma en comprimidos de 240-270 mg (80-90 mg de compuesto de pirrolidina activo por comprimido) en una prensa de comprimidos.

Formulación 2

Cápsulas

Un compuesto de pirrolidina de fórmula (I) se mezcló como un polvo seco con un diluyente de almidón en una relación en peso aproximada de 1:1. La mezcla se rellena en cápsulas de 250 mg (125 mg de compuesto de pirrolidina activo por cápsula).

Formulación 3

Líquido

Un compuesto de pirrolidina de fórmula (I) (1250 mg), sacarosa (1,75 g) y goma de xantano (4 mg) se mezclan, se pasan a través de un tamiz U. S. de tamaño No. 10 y luego se mezclan con una disolución previamente preparada de celulosa microcristalina y carboximetilil-celulosa de sodio (11: 89,50 mg) en agua. Se diluyen benzoato de sodio (10 mg), aromatizante y colorante con agua y se añaden con agitación. Se añade entonces suficiente agua para producir un volumen total de 5 mL.

Formulación 4

Comprimidos

Un compuesto de pirrolidina de fórmula (I) se mezcló como un polvo seco con un aglomerante de gelatina seco en una relación en peso aproximada de 1:2. Una cantidad minoritaria de estearato de magnesio se añade como lubricante. La mezcla se conforma en comprimidos de 450-900 mg (150-300 mg de compuesto de pirrolidina activo) en una prensa de comprimidos.

Formulación 5

Inyección

Un compuesto de pirrolidina de fórmula (I) se disuelve en un medio acuoso inyectable de solución salina estéril tamponada a una concentración de aproximadamente 5 mg/mL.

Ejemplo 20

Ensayos biológicos

Los compuestos de acuerdo con la fórmula (I) pueden someterse a los siguientes ensayos:

a) *Ensayo de unión de competición in vitro sobre el receptor de hOT con ensayo proximidad de centelleo (11)*

Este ensayo permite determinar la afinidad de los compuestos de análisis para el receptor de oxitocina humano (hOT). Se suspendieron membranas de HEK293EBNA (células que expresaban el receptor de hOT) en tampón que contenía Tris-HCl 50 mM, pH 7,4, MgCl₂ 5 mM y BSA al 0,1% (p/v). Las membranas (2-4 µg) se mezclaron con 0,1 mg de perlas de SPA revestidas con aglutinina de germen de trigo (perlas de WGA-PVT-Polietilen-Imina de Amersham) y 0,2 nM del [¹²⁵I]-OVTA radiomarcado (siendo OVTA Omitina Vasoactiva, un análogo de OT para experimentos de unión competitiva). La unión no específica se determinó en presencia de oxitocina 1 µM. El volumen de ensayo total fue 100 µl. Las placas (Corning®; placa NBS) se incubaron a temperatura ambiente durante 30 min y se sometieron a recuento en un contador de centelleo de placa Mibrobeta. La unión competitiva se realizó en presencia de compuestos de fórmula (I) a las siguientes concentraciones: 30 µM, 10 µM, 1 µM, 300 nM, 100 nM, 10 nM, 1 nM, 100 pM, 10 pM. Los datos de la unión competitiva se analizaron usando el programa de ajuste de curva no lineal iterativo "Prism" (GraphPad Software, Inc).

La capacidad de que los derivados de pirrolidina de fórmula (I) inhiban la unión de ¹²⁵I-OVTA respecto al receptor de OT se evaluó usando el ensayo biológico *in vitro* anteriormente descrito.

Se proporcionan los valores representativos para algunos compuestos de los ejemplos en la Tabla I donde la afinidad de unión de los compuestos de análisis de los ejemplos anteriores se expresa por la constante de inhibición (K_i; nM). A partir de estos valores, puede derivarse que dichos compuestos de análisis de acuerdo con la fórmula (I) muestran realmente una unión significativa respecto al receptor de oxitocina.

TABLA I

Ejemplo No.	Nombre IUPAC	Afinidad de unión hOT-R (K _i [nM])
1	[(2S)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-4-(metoxiimino)-pirrolidin-2-il]-acetato de metilo	37
2	3-[(2R,4EZ)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-4-(metoxiimino)pirrolidin-2-il]propanoato de metilo	144
3	[(2S,4EZ)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-4-(metoxiimino)pirrolidin-2-il]-acetato de ciclopentilo	45
5	2-[(2S,4EZ)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-4-(metoxiimino)pirrolidin-2-il-N-[(2S)-2-hidroxi-2-feniletil]acetamida	67
6	3-[(2R,4EZ)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-4-(metoxiimino)pirrolidin-2-il]-N-[(2S)-2-hidroxi-feniletil]propanamida	277
9	O-metiloxima de (3EZ,5S)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-5-(2-morfolin-4-il-2-oxoetil)pirrolidin-3-ona	142

ES 2 333 719 T3

b) Ensayo funcional No. 1: Inhibición de la movilización de Ca^{2+} mediada por oxitocina por FLIPR® (Lector de Placa de Visualización Fluorimétrica)

La acción de OT sobre el receptor de OT provoca una cascada compleja de eventos en la célula que conduce a un incremento en la concentración de Ca^{2+} intra- citoplásmico. Este incremento en la concentración de Ca^{2+} causa tanto la liberación de calcio del retículo sarcoplásmico (el calcio se almacena) en el citoplasma como el influjo de calcio del espacio extracelular a través de los canales de Ca^{2+} . Esta movilización de Ca^{2+} en el citoplasma activa a la maquinaria contráctil de las células miométriales que conduce a las contracciones uterinas (1 y 3).

Este ensayo permite la medida de la inhibición de la movilización de calcio mediada por OT/OT-R por los compuestos de análisis de fórmula (I).

FLIPR® es un dispositivo de visualización fluorimétrico que usa un láser (láser de ionización de Argón) para la iluminación simultánea y la lectura (cámara CCD enfriada) de cada pocillo de una placa de 96 pocillos, permitiéndose así rápidas medidas con un gran número de muestras.

Preparación de las placas: Las placas FLIPR se pre-revistieron con PLL (Poli-L-Lisina) 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ + gelatina al 0,1% para adherir las células HEK293EBNA (células de riñón embrionarias humanas que expresan el receptor de hOT) y se incubaron de 30 min hasta 2 días a 37°C. Las células se sacaron de las placas y se pusieron en placas de 96 pocillos (60000 células/pocillo).

Marque con fluo-4: 50 g de fluo-4 (tinte fluorescente sensible al Ca^{2+}) fueron disueltos en 20 μl de ácido plurónico (20% en DMSO). El fluo-4 disuelto se diluyó entonces en 10 ml de medio de cultivo de DMEM (Medio Esencial Mínimo de Dubecco)-F12. Las placas se lavaron una vez con medio DMEM-F12. Se añadieron 100 μl del medio DMEM-F12 que contenía fluo-4 a las células HEK que se incubaron durante 1,5-2h en este medio fluorescente. Fluo-4 es tomado por el citoplasma de las células.

Tampón: NaCl 145 mM, KCl 5 mM, MgCl_2 1 mM, Hepes 10 mM, Glucosa 10 mM, EGTA (ácido etilen-bis oxietilen-nitrilo-tetraacético). El pH se ajustó a 7,4.

Realización del ensayo: Se preparó un mínimo de 80 μl /pocillo de compuestos de fórmula (I) (5x) en el anterior tampón (1x) (placas de 96 pocillos). Los compuestos de fórmula (I) se añadieron a las placas de 96 pocillos a diferentes concentraciones (30 μM , 10 μM , 1 μM , 300 nM, 100 nM, 10 nM, 1 nM, 100 pM, 10 pM). Se añadió OT a una concentración de 40 nM.

La fluorescencia relativa de Fluo-4 (λ_{ex} =488 nm, (λ_{em} =590 nm) se mide entonces por FLIPR en presencia o ausencia de compuestos de fórmula (I). Siendo la fluorescencia del marcador sensible a la cantidad de Ca^{2+} , los movimientos de Ca^{2+} pueden ser detectados. Después, puede determinarse la capacidad de los compuestos de fórmula (I) de antagonizar la movilización intracelular de Ca^{2+} inducida por la oxitocina por el receptor de oxitocina.

c) Ensayo funcional No. 2: Inhibición de la síntesis de IP3 (Inositol Tri-Fosfato) en células HEK/EBNA-OTR

La interacción de OT sobre el receptor de OT conduce a la síntesis de IP3, segundo mensajero para la liberación del Ca^{2+} del retículo sarcoplásmico, implicado en el proceso de activación de la contracción uterina (3).

Este ensayo puede usarse para mostrar la inhibición de la síntesis de IP3 mediada por OT/OT-R usando los compuestos de análisis de fórmula (I).

Estimulación de las células: Se sacaron las células HEK/EBNA OTR (de rata o humanas) de placas para ponerlas en placas de 12 pocillos de costar y se equilibraron durante 15-24h con [^3H]-Inositol radiomarcado a 4 $\mu\text{Ci}/\text{ml}$ con FCS al 1% (0,5 ml/pocillo) y sin suplemento de inositol. El medio que contenía el marcador se aspira. Se añaden medio DMEM (sin FCS, inositol), Hepes 20 mM (ácido 4-(2-hidroxi)etil)-1- piperazin-etan-sulfónico), BSA a 1 mg/ml que contenía LiCl 10 mM (recién preparado), y se incuba durante 10-15 min a 37°C. El agonista (es decir, la oxitocina usada a una concentración de 10 nM) y los antagonistas (es decir, los compuestos de análisis de fórmula (I) pueden usarse en una concentración de 10 μM , 1 μM , 300 nM, 100 nM, 10 nM, 1 nM, 100 pM, 10 pM, 3 pM) pueden añadirse en el momento requerido (15-45 min), seguido de la aspiración del medio. En presencia de OT, el inositol radiomarcado se convierte en IP3 radiomarcado. La antagonización de OT en el receptor de OT inhibe la formación de IP3.

La cantidad del IP3 radiomarcado pueden determinarse a través de la consiguiente preparación. La reacción se para con 1 ml de disolución de parada (es decir, ácido perclórico 0,4 M) y se deja reposar durante 5-10 min a temperatura ambiente. Después, se transfieren 0,8 ml en tubos que contienen 0,4 ml de solución neutralizante (KOH 0,72 M/ KHCO_3 0,6M) y los tubos se agitan fuertemente y se mantienen en frío al menos durante 2 h.

Separación de IP: Las muestras se centrifugan en una centrifugadora de laboratorio a 3000-4000 rpm durante 15 min. 1 ml del sobrenadante se transfiere a nuevos tubos que contienen 2,5 ml de H_2O . La resina empaquetada (Dowex AG1X8) se equilibra con 20 ml de H_2O y la totalidad de las muestras se vierte sobre las columnas de cromatografía, separándose así la mezcla. Para eliminar el inositol libre, se llevan a cabo dos lavados con 10 ml de H_2O .

Elución del IP total: La elución se logra usando 3 ml de formiato de amonio 1 M/ácido fórmico 0,1M. El eluyente se recupera en tubos para el recuento del centelleo, después de la adición de 7 ml de líquido de centelleo. La cantidad de [³H]-IP3 se determina mediante un contador de centelleo.

5 La capacidad de los compuestos de fórmula (1) de antagonizar de forma efectiva la síntesis de IP3 inducida por la oxitocina mediada por el receptor de oxitocina, puede evaluarse usando el ensayo biológico *in vitro* anteriormente descrito.

10 d) *Modelo in vivo para la inhibición de las contracciones uterinas*

El ensayo evalúa el efecto biológico de los compuestos analizados en un modelo *in vivo* de parto prematuro, nacimiento prematuro.

15 Se trataron ratas hembras CD (SD) BR Charles River no preñadas (9-10 semanas, 200-250 g) a 18 y 24 horas antes del experimento con 250 µg/kg, i. p. de dietilestilbestrol (DES). Para el ensayo, el animal fue anestesiado con uretano (1,75 g/kg, i. p.) y se colocaron sobre una mesa de operación homeotérmica. La traquea se aisló y se le puso una cánula con un tubo de polietileno (PE) adecuado. Se realizó una incisión media a nivel del hipogastrio y una cavidad uterina expuesta, su extremo cefálico canulado con un tubo PE240 y, después de rellenar la cavidad interna con 0,2 ml
20 de solución salina estéril fisiológica, se conectó a un sistema de amplificación/registro "Gemini" vía un transductor de presión P231D Gould Statham.

Se aisló una vena yugular, se canuló con un tubo PE60 y se conectó a una aguja de mariposa para proporcionar una ruta de administración i. v. de los compuestos de ensayo vía una jeringa dispensadora.

25 En el caso de la administración intraduodenal de los compuestos de ensayo, el duodeno puede aislarse y de forma similar colocarles una cánula a través de una pequeña incisión en su pared.

30 También se aísla una arteria carótida y se le pone una cánula con un catéter de PE60 y se conecta a una jeringa adecuada para la recogida de muestras de sangre.

Después de un periodo de estabilización y a través de todo el experimento, se les inyectó la misma dosis de oxitocina repetidamente e intravenosamente en intervalos de 30 min. Cuando se obtenían respuestas contráctiles reproducibles del útero respecto a los mismos estímulos de OT (dosis seleccionada de oxitocina), se administraba la dosis de ensayo o de referencia (vehículo). Otros ciclos de inyección de la misma dosis de oxitocina se continuaron (inyecciones OT
35 en intervalos de 30 min) durante un tiempo adecuado después del tratamiento para evaluar los efectos inhibitorios y las reversibilidad de estos efectos.

40 La respuesta contráctil del útero frente a la oxitocina se cuantificó midiendo la presión intra-uterina y el número de contracciones. El efecto de los compuestos de referencia y de análisis se evaluó comparando los valores de presión pre- y post-tratamiento. Además, las contracciones del útero se midieron a los 5, 40, 75, 110, 145 y 180 minutos después de la administración del compuesto de análisis.

45 Las actividades de los derivados de pirrolidina reivindicados en la fórmula (I) pueden evaluarse usando el ensayo biológico *in vitro* anteriormente descrito.

Referencias

- 50 1. **Gimpl G. y Fahrenholz, F.** *Physiological Reviews* 2001, **81**, 629-683.
2. **Maggi, M. et al.** *J. Clin. Endocrinol. Metabol.* 1990, **70**, 1142-1154.
3. **Mitchell, B. F. y Schmid, B. J.** *Soc. Gynecol. Invest.* 2001, **8**, 122-33.
- 55 4. **Thorton, S. et al.,** *Experimental Physiology* 2001; **86**, 297-302.
5. **Evans B. E. et al.** *J. Med. Chem.* 1992, **35**, 3919-3927.
- 60 6. **Gennaro, A. R. et al.,** *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 20ª Edición, 2000, Marck Publishing Company, Easton, Pennsylvania.
7. **T. W. Greene et al.** *John Wiley & Sons Inc*, Tercera Edición 1999.
- 65 8. **R.C. Larock, Wiley VCH** 1999.
9. **E. Breitmaier, W. Voelter** *Carbon-13 NMR Spectroscopy*, 3ª Ed, p. 240, *VCH*, 1987.

ES 2 333 719 T3

10. **Philip J. Kocienski**, en “Protecting Groups”, *Georg Thieme Verlag* Stuttgart, New York, 1994.

11. **Cook**, N. D. *et al. Pharmaceutical Manufacturing International* 1992; p. 49-53.

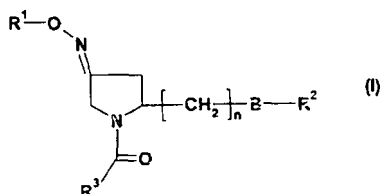
12. Documento WO 01/72705 (Applied Research Systems ARS Holding)

13. Documento WO 02/074741 (Applied Research Systems ARS Holding)

14. Documento WO 02/102799 (Applied Research Systems ARS Holding).

REIVINDICACIONES

1. Un derivado de pirrolidina de Fórmula I:



sus isómeros geométricos, sus formas activas ópticamente como enantiómeros, diastereómeros, mezclas de estas formas y sus racematos, así como sus sales, en el que:

R¹ se selecciona entre el grupo que comprende o que consiste en H y alquilo C₁-C₆ sustituido o no sustituido;

B se selecciona entre el grupo que consiste en -COO, -CONR₄, oxadiazol, tiadiazol o benzimidazol;

R² se selecciona entre el grupo que comprende o que consiste en hidrógeno y los grupos, sustituidos o no sustituidos, seleccionados entre: alquilo C₁-C₆, arilo, alquil C₁-C₆-arilo, heteroarilo, alquil C₁-C₆-heteroarilo, alqueno C₂-C₆, alqueno C₂-C₆-arilo, alqueno C₂-C₆-heteroarilo, alquino C₂-C₆, alquino C₂-C₆-arilo, alquino C₂-C₆-heteroarilo, cicloalquilo C₃-C₈, heterocicloalquilo, alquil C₁-C₆-cicloalquilo, alquil C₁-C₆-heterocicloalquilo, alquil C₁-C₆-carboxi, acilo, alquil C₁-C₆-acilo, alquil C₁-C₆-aciloxi, alquil C₁-C₆-alcoxi, alcocarbonilo, alquil C₁-C₆-alcocarbonilo, aminocarbonilo, alquil C₁-C₆-aminocarbonilo, alquilo C₁-C₆-acilamino, alquilo C₁-C₆-ureido, amino, alquil C₁-C₆-amino, sulfonilo, alquil C₁-C₆-sulfonilo, sulfonilo, alquil C₁-C₆-sulfonilo, sulfino, alquil C₁-C₆-sulfino, alquil C₁-C₆-sulfanilo, alquil C₁-C₆-sulfonilamino;

R³ se selecciona entre el grupo que comprende o que consiste en arilo sustituido o no sustituido y heteroarilo sustituido o no sustituido;

R⁴ se selecciona entre el grupo que comprende o que consiste en H, alquilo C₁-C₆ sustituido o no sustituido, alquil C₁-C₆-arilo, alquil C₁-C₆-heteroarilo, arilo, heteroarilo; o

R² y R⁴ pueden formar, junto con el átomo de N al que están unidos, un anillo de heterocicloalquilo saturado o insaturado de 5-8 miembros sustituido o no sustituido; y

n es un número entero entre 1 y 3.

2. Un derivado de pirrolidina de acuerdo con la reivindicación 1, en el que R¹ es metilo.

3. Un derivado de pirrolidina de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2, en el que R³ es un bifenilo.

4. Un derivado de pirrolidina de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que n es un número entero 1 ó 2.

5. Un derivado de pirrolidina de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que B es -COO, CONR⁴ o un oxadiazol.

6. Un derivado de pirrolidina de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que R² se selecciona entre el grupo que consiste en H, alquilo C₁-C₆, o cicloalquilo de 3-8 miembros.

7. Un derivado de pirrolidina de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que R² y R⁴ forman, junto con el átomo de N al que están unidos, un resto piperidinilo, piperazinilo o morfolino.

8. Un derivado de pirrolidina de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores en el que R¹ es metilo, R³ es un resto bifenilo, B es -COO, CONR⁴ o un resto 1,2,4-oxadiazol.

9. Un derivado de pirrolidina de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores seleccionado a partir del grupo siguiente:

ácido 3-[(2R,4EZ)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-4-(metoxiimino)pirrolidin-2-il]-propanoico

3-[(2R,4EZ)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-4-(metoxiimino)pirrolidin-2-il]-propanoato de metilo

[(2S,4EZ)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-4-(metoxiimino)pirrolidin-2-il]-acetato de ciclopentilo

ES 2 333 719 T3

3-[(2*R*,4*EZ*)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-4-(metoxiimino)pirrolidin-2-il]-propanoato de ciclopentilo

2-[*(2S,4EZ)*-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-4-(metoxiimino)pirrolidin-2-il]-*N*-[*(2S)*-2-hidroxi-2-feniletil]-acetamida

3-[*(2R,4EZ)*-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-4-(metoxiimino)pirrolidin-2-il]-*N*-[(*2S*)-2-hidroxi-2-feniletil]-propanamida

2-[(2*S*,4*EZ*)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-4-(metoksiimino)-pirrolidin-2-il]-acetamida

3-[*(2R,4EZ)*-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-4- (metoxiimino) pirrolidin-2-il]-propanamida

O-metiloxima de (3*EZ*,5*S*)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-5-(2-morfolin-4-il-2-oxoetil)-pirrolidin-3-ona

O-metiloxima de (3*EZ*,5*R*)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-5-(3-morfolin-4-il-3-oxopropil)-pirrolidin-3-ona

N-(2-aminofenil)-2-[(2*S*,4*EZ*)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-4-(metoxiimino)-pirrolidin-2-il]-acetamida

N-(2-aminofenil)-3-[(2*R*,4*EZ*)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-4-(metoxiimino)-pirrolidin-2-il]-propanamida

O-metiloxima de (3*EZ*,5*S*)-5-(1*H*-benzimidazol-2-ilmetil)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)pirrolidin-3-ona

O-metiloxima de (3*EZ*,5*R*)-5-[2-(1*H*-benzimidazol-2-il)etil]-1-(bifenil-4-ilcarbonil)pirrolidin-3-ona

O-metiloxima de (3*EZ*,5*S*)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-5-[(3-metil-1,2,4-oxadiazol-5-il)metil]-pirrolidin-3-ona

O-metiloxima de (3*EZ*,5*S*)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-5-[2-(3-metil-1,2,4-oxadiazol-5-il)etil]-pirrolidin-3-ona

O-metiloxima de (3*EZ*,5*S*)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-5-[[3-(2-hidroxi-etil)-1,2,4-oxadiazol-5-il]-metil]pirrolidin-3-ona

O-metiloxima de (3*EZ*,5*R*)-1-(bifenil-4-ilcarbonil)-5-{2-[3-(2-hidroxietil)-1,2,4-oxadiazol-5-il]-etil}pirrolidin-3-ona.

10. Un derivado de pirrolidina de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores para su uso como un medicamento.

11. Un derivado de pirrolidina de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 así como sus isómeros, formas ópticamente activas como enantiómeros, diastereómeros y mezclas, así como sus sales para su uso en la prevención y/o el tratamiento de parto prematuro, nacimiento prematuro o dismenorrea.

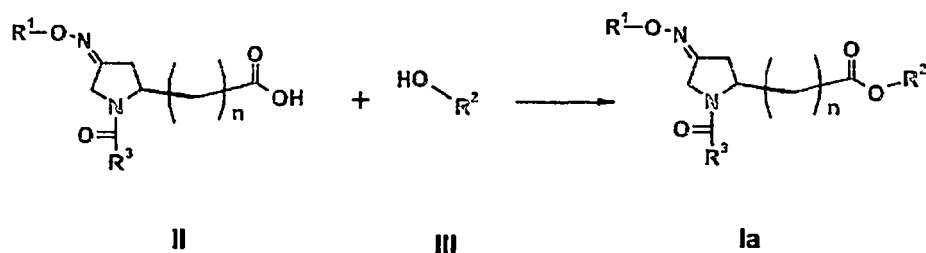
12. Un derivado de pirrolidina de acuerdo con la reivindicación 1 a 9, para su uso en el tratamiento de trastornos que requieren la modulación del receptor de oxitocina.

13. El derivado de pirrolidina de acuerdo con la reivindicación 12, para su uso en el tratamiento o la prevención de trastornos asociados con la actividad del receptor de oxitocina.

14. El derivado de pirrolidina de acuerdo con la reivindicación 12 ó 13, en el que dicha modulación consiste en el bloqueo del receptor de oxitocina o en la antagonización de la unión de oxitocina a su receptor.

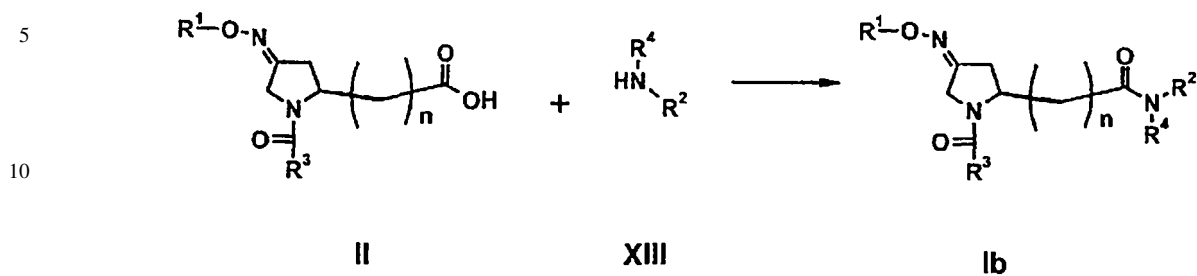
15. Una composición farmacéutica que contiene un derivado de pirrolidina de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 y su vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptables.

16. Un método para preparar un derivado de pirrolidina de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 que comprende la etapa de hacer reaccionar el ácido carboxílico (II) con un alcohol (III)



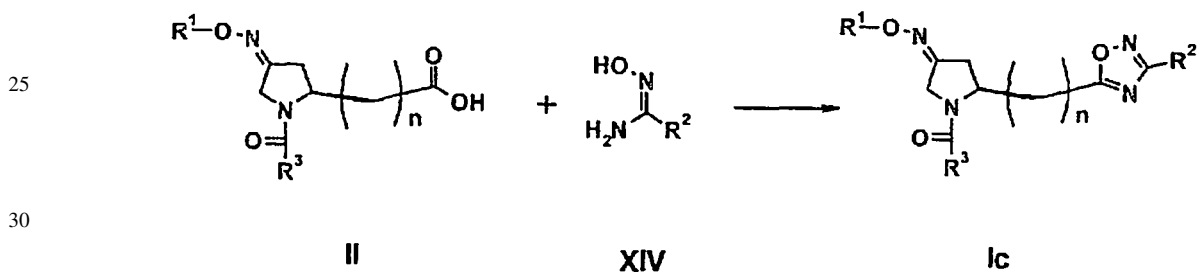
en el que R^1, R^2, R^3 y n son como se definen en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8.

17. Un método para preparar un derivado de pirrolidina de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 que comprende la etapa de hacer reaccionar el ácido carboxílico (II) con una amina (XIII)



en el que R¹, R², R³, R⁴ y n son como se definen en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8.

18. Un método para preparar un derivado de pirrolidina de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 que comprende la etapa de hacer reaccionar el ácido carboxílico (II) con una amidoxima (XIV)



en el que R¹, R², R³ y n son como se definen en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8.

19. El uso de un derivado de pirrolidina de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 en la preparación de un medicamento para:

- 40
- 45
- 50
- 55
- 60
- 65
- (i) la prevención y/o el tratamiento de parto prematuro; nacimiento prematuro o dismenorrea; o
 - (ii) el tratamiento de trastornos que requieren la modulación del receptor de oxitocina.