



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 314 112**

(51) Int. Cl.:

C07D 207/40 (2006.01)

C07D 207/416 (2006.01)

C07D 403/12 (2006.01)

A61K 31/4015 (2006.01)

A61K 31/497 (2006.01)

A61P 11/00 (2006.01)

A61P 19/00 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(96) Número de solicitud europea: **02783926 .5**

(96) Fecha de presentación : **06.11.2002**

(97) Número de publicación de la solicitud: **1444202**

(97) Fecha de publicación de la solicitud: **11.08.2004**

(54) Título: **Nuevos inhibidores de metalproteinasas.**

(30) Prioridad: **07.11.2001 SE 2001103710**

(73) Titular/es: **AstraZeneca AB.
151 85 Södertälje, SE**

(45) Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.03.2009

(72) Inventor/es: **Eriksson, Anders;
Lepistö, Matti;
Lundkvist, Michael;
Munck af Rosenschöld, Magnus;
Stenvall, Kristina y
Zlatoidsky, Pavol**

(45) Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.03.2009

(74) Agente: **Elzaburu Márquez, Alberto**

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

Nuevos inhibidores de metaloproteinasas.

5 La presente invención se refiere a compuestos útiles en la inhibición de metaloproteinasas y, en particular, a composiciones farmacéuticas que los comprenden, así como a su uso.

10 Los compuestos de esta invención son inhibidores de una o más enzimas metaloproteinasas. Las metaloproteinasas son una superfamilia de proteinasas (enzimas) cuyo número ha aumentado drásticamente en los últimos años. En base a consideraciones estructurales y funcionales estas enzimas se han clasificado en familias y subfamilias como se describe en N.M. Hooper (1994) FEBS Letters 354:1-6. Ejemplos de metaloproteinasas incluyen metaloproteinasas de matriz (MMP) tales como las colagenasas (MMP1, MMP8, MMP13), las gelatinasas (MMP2, MMP9), las estromelisinas (MMP3, MMP10, MMP11), matrilisina (MMP7), metaloelastasa (MMP12), enamelisina (MMP19), las MT-MMPs (MMP14, MMP15, MMP16, MMP17); la reprodilisina o adamalisina o la familia MDC que incluye las secretasas y convertas tales como las enzimas convertidoras del TNF (ADAM10 y TACE); la familia de astacina que incluye enzimas tales como proteína procesadora de colágeno (PCP); y otras metaloproteinasas tales como aggrecanasa, la familia de enzimas convertidoras de endotelina y la familia de enzimas convertidoras de angiotensina.

20 Se cree que las metaloproteinasas son importantes en un sinfín de procesos fisiológicos de enfermedad que implican remodelación tisular tal como desarrollo embrionario, formación ósea y remodelación uterina durante la menstruación. Esto se basa en la capacidad de las metaloproteinasas para abrir una amplia gama de sustratos de matriz tales como colágeno, proteoglucano y fibronectina. Se cree que las metaloproteinasas son importantes en el procesado, o secreción, de importantes mediadores celulares biológicos tales como el factor de necrosis tumoral (TNF); y el procesado de proteólisis post-traducción, o desprendimiento, de proteínas de membrana biológicamente importantes, tales como el receptor de IgE de baja afinidad CD23 (para una lista más completa véase N. M. Hooper *et al.*, (1997) Biochem J. 321:265-279).

30 Las metaloproteinasas se han asociado con mucho estados de enfermedad. La inhibición de la actividad de una o más metaloproteinasas puede ser beneficiosa en estos estados de enfermedad, por ejemplo: diversas enfermedades inflamatorias y alérgicas tales como, inflamación de las articulaciones (en especial artritis reumatoide, osteoartritis y gota), inflamación del tracto gastrointestinal (en especial enfermedad inflamatoria del intestino, colitis ulcerosa y gastritis), inflamación de la piel (en especial psoriasis, eccema, dermatitis); en metástasis o invasión tumoral; en enfermedad asociada con degradación no controlada de la matriz extracelular tal como osteoartritis; en enfermedad de resorción ósea (tal como osteoporosis y enfermedad de Paget); en enfermedades asociadas con angiogénesis aberrante; 40 la remodelación del colágeno asociada con diabetes, enfermedad periodontal (tal como gingivitis), ulceración corneal, ulceración de la piel, estados patológicos postoperatorios (tales como anastomosis del colon) y cicatrización de heridas dérmicas; enfermedades desmielinizantes de los sistemas nerviosos central y periférico (tales como esclerosis múltiple; enfermedad de Alzheimer; remodelación de la matriz extracelular observada en enfermedades cardiovasculares tales como reestenosis y aterosclerosis; asma; rinitis; y enfermedades pulmonares obstructivas crónicas (EPOC).

45 MMP12, también conocida como elastasa de macrófagos o metaloelastasa, se clonó inicialmente en el ratón por Shapiro *et al.* (1992, Journal of Biological Chemistry 267: 4664) y en el hombre por el mismo grupo en 1995. MMP-12 se expresa preferentemente en macrófagos activados, y ha demostrado que es secretada por macrófagos alveolares de fumadores (Shapiro *et al.*, 1993, Journal of Biological Chemistry, 268: 23824) así como en células espumosas en lesiones ateroscleróticas (Matsumoto *et al.*, 1998, Am J Pathol 153: 109). Un modelo de ratón de EPOC se basa en la estimulación provocada de ratones a humo de cigarrillos durante seis meses, dos cigarrillos al día seis días a la semana. Los ratones de tipo salvaje desarrollaron enfisema pulmonar después de este tratamiento. Cuando se ensayaron ratones con eliminación génica de MMP12 en este modelo no desarrollaron enfisema significativo, indicando rotundamente que MMP-12 es una enzima clave en la patogénesis de la EPOC. La función de MMP tales como MMP12 en EPOC (enfisema y bronquitis) se describe en Anderson and Shinagawa, 1999, Current Opinion in Anti-inflammatory and Immunomodulatory Investigational Drugs 1(1): 29-38. Recientemente se descubrió que fumar aumenta la infiltración de macrófagos y la expresión de MMP-12 derivada de macrófagos en placas de arteria carótida humana Kangavari (Matetzky S, Fishbein MC *et al.*, Circulation 102:(18), 36-39 Suppl. S, Oct 31, 2000).

55 MMP13, o colagenasa 3, se clonó inicialmente a partir de una genoteca de ADN obtenida de un tumor de mama [J. M. P. Freije *et al.* (1994) Journal of Biological Chemistry 269(24):16766-16773]. El análisis PCR-ARN de ARN de una amplia gama de tejidos indicó que la expresión de MMP13 estaba limitada a carcinomas de mama ya que no se encontró en fibroadenomas de mama, glándula mamaria normal o en reposo, placenta, hígado, ovario, útero o glándula parótida o en líneas celulares de cáncer de mama (T47-D, MCF-7 y ZR75-1). Después de esta observación se ha detectado MMP13 en queratinocitos epidérmicos transformados [N. Johansson *et al.*, (1997) Cell Growth Differ. 8 (2):243-250], carcinomas de células escamosas [N. Johansson *et al.*, (1997) Am. J. Pathol. 151(2):499-508] y tumores epidérmicos [K. Airola *et al.*, (1997) J. Invest. Dermatol. 109(2):225-231]. Estos resultados sugieren que MMP13 es secretada por células epiteliales transformadas y puede estar implicada en la degradación de la matriz extracelular y en la interacción célula-matriz asociada con metástasis, en especial la observada en lesiones de cáncer de mama invasivo y en crecimiento epitelial maligno en carcinogénesis de piel.

60 Datos publicados recientemente dan a entender que MMP13 desempeña una función en la renovación de otros tejidos conectivos. Por ejemplo, consistente con la especificidad por sustratos de la MMP13 y la preferencia por la de-

ES 2 314 112 T3

gradación de colágeno tipo II [P. G. Mitchell *et al.*, (1996) J. Clin. Invest 97(3):761-768; V. Knauper *et al.*, (1996) The Biochemical Journal 271:1544-1550], se ha supuesto que MMP13 sirve a una función durante la osificación primaria y la remodelación esquelética [M. Stahle-Backdahl *et al.*, (1997) Lab. Invest. 76(5):717-728; N. Johansson *et al.*, (1997) Dev. Dyn. 208(3):387-397], en enfermedades de las articulaciones destructivas tales como artritis reumatoide 5 y osteoartritis [D. Wernicke *et al.*, (1996) J. Rheumatol. 23:590-595; P. G. Mitchell *et al.*, (1996) J. Clin. Invest. 97 (3):761-768; O. Lindy *et al.*, (1997) Arthritis Rheum 40(8):1391-1399]; y durante el aflojamiento aseptico de prótesis 10 de cadera [S. Imai *et al.*, (1998) J. Bone Joint Surg. Br. 80(4):701-710]. MMP13 también se ha implicado en periodontitis crónica en el adulto ya que se ha localizado en el epitelio de tejido gingival humano mucoso crónicamente inflamado [V. J. Uitto *et al.*, (1998) Am. J. Pathol 152(6):1489-1499] y en la remodelación de la matriz de colágeno 15 en heridas crónicas [M. Vaalamo *et al.*, (1997) J. Invest. Dermatol. 109(1):96-101].

MMP9 (Gelatinasa B; Colagenasa Tipo IV de 92kDa; Gelatinasa de 92kDa) es una proteína secretada que primero se purificó, luego se clonó y se secuenció en 1989 [S.M. Wilhelm *et al* (1989) J. Biol Chem. 264(29): 17213-17221; errata publicada en J. Biol Chem. (1990) 265(36): 22570]. Una revisión reciente de MMP9 proporciona una fuente 15 excelente de información detallada y de referencias en esta proteasa: T.H. Vu & Z. Werb (1998) (En : Matrix Metalloproteinases. 1998. Publicado por W.C. Parks & R.P. Mecham. páginas 115-148. Academic Press. ISBN 0-12-545090-7). De la revisión se deducen los puntos siguientes por T.H. Vu & Z. Werb (1998).

La expresión de MMP9 está normalmente limitada a unos pocos tipos de células, incluyendo trofoblastos, osteoclastos, neutrófilos y macrófagos. Sin embargo, su expresión puede ser inducida en estas mismas células y en otros tipos de células por varios mediadores, incluyendo la exposición de las células a factores de crecimiento y citoquinas. Estos son los mismos mediadores implicados frecuentemente en el inicio de una respuesta inflamatoria. Como con otras MMP secretadas, MMP9 es liberada como una proenzima inactiva que seguidamente se escinde formando la enzima enzimáticamente activa. Se desconocen las proteasas requeridas para esta activación *in vivo*. El equilibrio 20 de la MMP9 frente a la enzima inactiva se regula además *in vivo* por interacción con TIMP-1 (Inhibidor Tisular de Metaloproteínasas -1), una proteína de origen natural. TIMP-1 se une a la región del extremo C-terminal de MMP9, conduciendo a la inhibición del dominio catalítico de MMP9. El equilibrio de la expresión inducida de ProMMP9, escisión de Pro-MMP9 a MMP9 activa y la presencia de TIMP-1 se combinan para determinar la cantidad de MMP9 25 catalíticamente activa que está presente en un sitio local. MMP9 proteolíticamente activa ataca sustratos que incluyen gelatina, elastina y colágenos Tipo IV y Tipo V nativos; no tiene actividad frente a colágeno Tipo I nativo, proteoglucanos o lamininas.

Se ha producido un *corpus* creciente de datos que implican funciones de MMP9 en diversos procesos fisiológicos y patológicos. Las funciones fisiológicas incluyen la invasión de trofoblastos embrionarios a través del epitelio del útero 30 en las primeras etapas de la implantación embrionaria; alguna función en el crecimiento y desarrollo de los huesos; y migración de células inflamatorias desde la vasculatura a los tejidos.

La liberación de MMP-9, medida usando un inmunoensayo enzimático, se potenció de forma significativa en 35 fluidos y en líquidos sobrenadantes de AM de pacientes asmáticos sin tratar al compararla con los de otras poblaciones [Am. J. Resp. Cell & Mol. Biol., (Nov 1997) 17(5):583-591]. Además, se ha observado una mayor expresión de MMP9 en ciertas otras condiciones patológicas, implicando por tanto a MMP9 en procesos de enfermedad tales como artritis, metástasis tumoral, enfermedad de Alzheimer, Esclerosis Múltiple y ruptura de la placa en aterosclerosis que conduce 40 a estados patológicos coronarios tales como infarto de miocardio.

MMP-8 (colagenasa-2, colagenasa de neutrófilos) es una enzima de 53 kD de la familia de metaloproteínasas de matriz que se expresa preferentemente en neutrófilos. Posteriores estudios indican que MMP-8 es expresada también 45 en otras células, tales como crondocitos osteoartríticos [Shlopov *et al*, (1997) Arthritis Rheum, 40:2065]. Las MMP producidas por neutrófilos pueden causar remodelado tisular y, por ello, bloquear la MMP-8 tendrá un efecto positivo en enfermedades fibróticas, por ejemplo, del pulmón y en enfermedades degenerativas como el enfisema pulmonar. 50 MMP-8 también se encontró que aumentaba el nivel de los receptores en osteoartritis, indicando que el bloqueo de MMP-8 también puede ser beneficioso en esta enfermedad.

MMP-3 (estromelisina-1) es una enzima de 53 kD de la familia de metaloproteínasas de matriz. La actividad de 55 MMP-3 se ha demostrado en fibroblastos aislados de encías inflamadas [Uitto V. J. *et al*, (1981) J. Periodontal Res., 16:417-424], y se han correlacionado niveles de enzima con la intensidad de la enfermedad gingival [Overall C. M. *et al*, (1987) J. Periodontal Res., 22:81-88]. MMP-3 también se produce por queratinocitos basales en una diversidad de úlceras crónicas [Saarialho-Kere U. K. *et al*, (1994) J. Clin. Invest., 94:79-88]. Se detectaron ARNm de MMP-3 y proteína en queratinocitos basales adyacentes a, pero distales del límite de heridas en las que probablemente 60 representan los sitios de proliferación de epidermis. MMP-3 puede prevenir así la cicatrización de la epidermis. Varios investigadores han demostrado una elevación consistente de MMP-3 en fluidos sinoviales de pacientes con artritis reumatoide y osteoartritis al compararlos con los controles [Walakovits L. A. *et al*, (1992) Arthritis Rheum., 35:35-42; Zafarullah M. *et al*, (1993) J. Rheumatol., 20:693-697]. Estos estudios proporcionaron la base para la creencia de que un inhibidor de MMP-3 tratará enfermedades que impliquen la ruptura de la matriz extracelular que da lugar a 65 inflamación debido a infiltración de linfocitos, o pérdida de la integridad estructural necesaria para la función de los órganos.

Se conocen una serie de compuestos inhibidores de metaloproteínasas y algunos se están desarrollando para usos farmacéuticos (véase por ejemplo la revisión de inhibidores de MMP de Beckett R.P. and Whittaker M., 1998, Exp.

ES 2 314 112 T3

Opin. Ther. Patents, 8(3):259-282). Diferentes clases de compuestos pueden tener diferentes grados de potencia y selectividad para inhibir diversas metaloproteinasas.

Whittaker M. et al (1999, Chemical Reviews 99(9):2735-2776) revisaron una amplia gama de compuestos inhibidores de MMP conocidos.

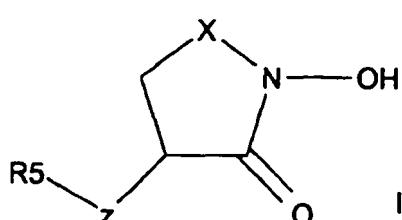
5 Ellos concluyeron que un inhibidor eficaz de MMP requiere un grupo de unión a zinc o ZBG (grupo funcional capaz de formar quelato del ion zinc (II) en el sitio activo), al menos un grupo funcional que proporciona interacción de enlace de hidrógeno con la estructura de la enzima y una o más cadenas que sufren interacciones de Van der Waals eficaces con los sitios secundarios de la enzima. Los grupos de unión a zinc en inhibidores de MMP conocidos incluyen hidroxamatos, hidroxamatos inversos, tioles, carboxilatos y ácidos fosfónicos.

10 El documento US 6,159,995 revela ácidos diaminocarboxílicos sustituidos como medicamentos para el tratamiento de trastornos del tejido conectivo.

15 Los autores de la invención han descubierto una nueva clase de compuestos que son inhibidores de metaloproteinasas y son de interés particular en la inhibición de MMP. Los compuestos de la invención son potentes inhibidores de MMP 12 y tienen propiedades de potencia, selectividad y/o farmacocinéticas beneficiosas.

20 Un inhibidor de metaloproteinasa es un compuesto que inhibe la actividad de una enzima metaloproteinasa (por ejemplo, una MMP). A modo de ejemplo no limitante, el compuesto inhibidor puede mostrar IC_{50} *in vitro* en el intervalo de 0,1-1000 nanomolar.

En un primer aspecto de la invención se proporciona un compuesto de la fórmula I



35 en las que:

X se selecciona de CO o CH₂;

40 Z se selecciona de SO₂ o SO₂N(R3);

R3 se selecciona de H, alquilo C1-6, fenil-alquilo C1-6 o heteroaril-alquilo C1-6;

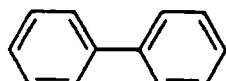
45 R5 es un grupo di- o tríclico que comprende dos o tres estructuras de anillo, cada una de hasta 7 átomos de anillo, seleccionados independientemente de arilo y heterocicloalquilo, estando cada estructura de anillo de forma independiente opcionalmente sustituida con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente de halógeno, alquilo C1-6, haloalquilo C1-6, alcoxi C1-6 y haloalcoxi C1-6; estando cada estructura de anillo unida al anillo siguiente por un enlace directo o por -O-.

50 Cualquier grupo alquilo descrito antes puede ser de cadena lineal o ramificada.

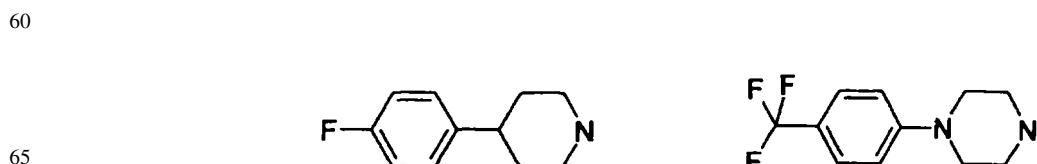
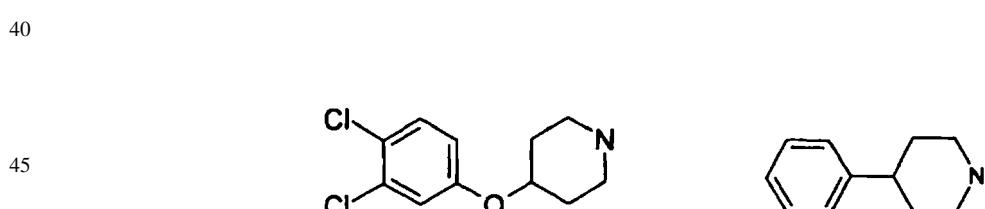
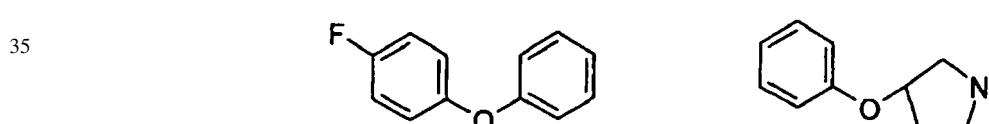
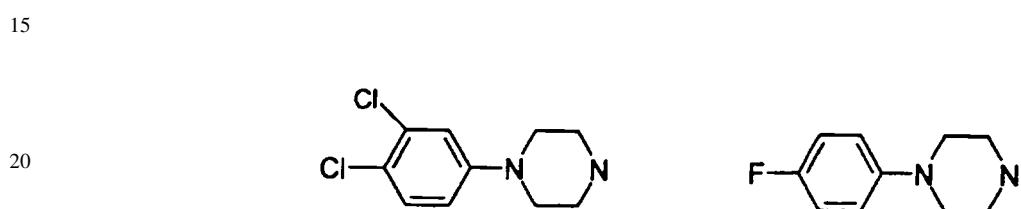
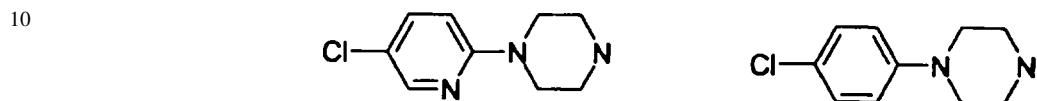
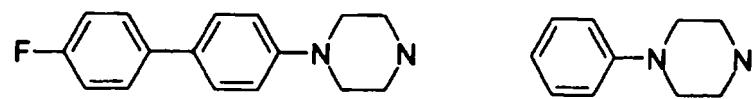
Cualquier grupo heterocicloalquilo descrito antes contiene uno o más heteroátomos seleccionados de forma independiente de N, O, S.

55 En R5, cada sustituyente opcional en una estructura de anillo se selecciona de: Halógeno (por ejemplo, flúor, cloro, bromo o yodo); alquilo C1-6 (por ejemplo metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, o terc-butilo); haloalquilo C1-6 (por ejemplo trifluorometilo, pentafluoroetilo); alcoxi C1-6 (por ejemplo metoxi, etoxi, isopropoxi, butoxi, terc-butoxi, hidroximetilo, metoximetilo); y haloalcoxi C1-6 (por ejemplo trifluorometoxi).

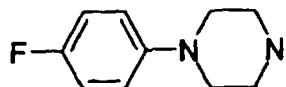
60 Valores adecuados para R5 incluyen los siguientes:



ES 2 314 112 T3



ES 2 314 112 T3



5

Compuestos preferidos de la fórmula I son aquellos en los que son de aplicación uno cualquiera o más de los siguientes:

10 X es CO o CH₂;

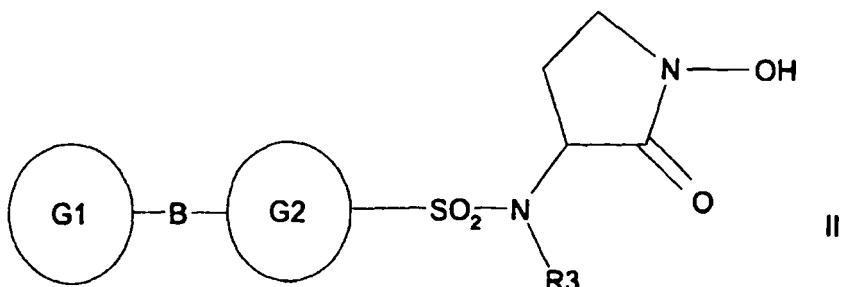
Z es SO₂ o SO₂N(R₃)

R₃ es H, alquilo C₁-6, o fenil-alquilo C₁-6;

15 R₅ es un grupo dicíclico o tricíclico que comprende una o dos estructuras de anillo, cada una de hasta 7 átomos de anillo, seleccionados independientemente de arilo o heterocicloalquilo, estando cada estructura de anillo de forma independiente opcionalmente sustituida con uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente de halógeno, alquilo C₁-6, haloalquilo C₁-6, alcoxi C₁-6, haloalcoxi C₁-6; preferentemente al menos una estructura de anillo está 20 sustituida; lo más preferentemente ambas estructuras de anillo están sustituidas.

Los compuestos más preferidos de la invención son los de fórmula II

25



30

35

en las que:

40 R₃ se selecciona de H, alquilo C₁-6 o fenil-alquilo C₁-6;

45 cada uno de G₁ y G₂ es un grupo monocíclico, comprendiendo cada uno una estructura de anillo de hasta 7 átomos de anillo, seleccionada independientemente de arilo y heterocicloalquilo, estando cada estructura de anillo de forma independiente opcionalmente sustituida con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente de halógeno, alquilo C₁-6, haloalquilo C₁-6, alcoxi C₁-6 y haloalcoxi C₁-6;

B es un enlace directo o -O-;

50 Cualquier grupo alquilo descrito antes puede ser de cadena lineal o ramificada.

Cualquier grupo heterocicloalquilo descrito antes contiene uno o más heteroátomos seleccionados de forma independiente de N, O, S.

55 Compuestos preferidos de la fórmula II son aquellos en los que es de aplicación uno cualquiera o más de los siguientes:

G₁ es una estructura de anillo arilo (preferiblemente fenilo) opcionalmente sustituida con halógeno o haloalquilo C₁-3; G₂ es una estructura de anillo arilo (preferiblemente fenilo), o G₂ es una estructura de anillo heterocicloalquilo de 5 ó 6 miembros que contiene uno o dos átomos de nitrógeno;

60 B es un enlace directo.

65 Se apreciará que los sustituyentes particulares y números de sustituyentes en los compuestos de fórmulas I o II se seleccionan con el fin de evitar combinaciones estéricamente no deseadas.

Cada compuesto ejemplificado representa un aspecto particular e independiente de la invención.

ES 2 314 112 T3

Cuando existen centros ópticamente activos en los compuestos de fórmulas I o II, se revelan formas ópticamente activas y combinaciones de estas como realizaciones específicas individuales de la invención, así como sus racematos correspondientes. Los racematos se pueden separar en las formas individuales ópticamente activas usando procedimientos conocidos (véase, Advanced Organic Chemistry: 3^a Edición: autor J March, páginas 104-107) que incluye 5 por ejemplo la formación de derivados diastereoisoméricos que tienen especies auxiliares ópticamente activas convenientes seguido por la separación y luego ruptura de las especies auxiliares.

Se apreciará que los compuestos de acuerdo con la invención pueden contener uno o más átomos de carbono sustituidos de forma asimétrica. La presencia de uno o más de esos centros asimétricos (centros quirales) en un compuesto 10 de fórmulas I o II puede dar lugar a estereoisómeros, y en cada uno de los casos, se sobreentiende que la invención se extiende a todos los citados estereoisómeros, incluyendo enantiómeros y diastereoisómeros, y mezclas que incluyen sus mezclas racémicas.

Cuando existan tautómeros en los compuestos de fórmulas I o II, se revelan formas tautoméricas y combinaciones 15 de estas como realizaciones específicas individuales de la invención.

Como se ha expuesto anteriormente, los compuestos de la invención son inhibidores de metaloproteinasa, en particular, estos son inhibidores de MMP12. Cada una de las indicaciones anteriores para los compuestos de las fórmulas I o II representa una realización independiente y particular de la invención.

20 Ciertos compuestos de la invención son de uso particular como inhibidores de MMP13 y/o MMP9 y/o MMP8 y/o MMP3. Ciertos compuestos de la invención son de uso particular como inhibidores de agreganasa, es decir, inhibidores de la degradación de agregano.

25 Los compuestos de la invención muestran un perfil de selectividad favorable. Aunque no se pretende quedar ligado por consideraciones teóricas, se cree que los compuestos de la invención presentan una inhibición selectiva para una cualquiera de las indicaciones anteriores relativa a cualquier actividad inhibidora de MMP1, a modo de ejemplo no limitante estos pueden presentar una selectividad de 100 a 1000 veces sobre cualquier actividad inhibidora de MMP1.

30 Los compuestos de la invención se pueden proporcionar como sales farmacéuticamente aceptables. Estas incluyen las sales de adición de ácidos tales como sales hidrocloruro, hidrobromuro, citrato y maleato, formadas con ácido fosfórico y sulfúrico. En otro aspecto, sales adecuadas son sales de bases tales como una sal de metal alcalino, por ejemplo, sodio o potasio, una sal de metal alcalinotérreo, por ejemplo, calcio o magnesio, o una sal de amina orgánica, 35 por ejemplo, trietilamina.

Los compuestos de la invención también se pueden proporcionar como carbamatos o amidas farmacéuticamente aceptables.

40 Estos también se pueden proporcionar como ésteres hidrolizables *in vivo*. Estos son ésteres farmacéuticamente aceptables que se hidrolizan en el cuerpo humano produciendo el compuesto principal. Tales ésteres se pueden identificar administrando, por ejemplo, por vía intravenosa, a un animal de experimentación, el compuesto a ensayar y examinando seguidamente los fluidos corporales del animal. Ésteres hidrolizables *in vivo* adecuados para carboxi incluyen metoximetilo y para hidroxi incluyen formilo y acetilo, en especial acetilo. Otros ésteres adecuados incluyen 45 ésteres carbónicos.

Con el fin de usar un compuesto de las fórmulas I o II o una de sus sales farmacéuticamente aceptables o uno de sus ésteres hidrolizables *in vivo* para el tratamiento terapéutico (incluyendo el tratamiento profiláctico) de mamíferos 50 incluyendo seres humanos, normalmente se formulaan de acuerdo con la práctica farmacéutica convencional en forma de una composición farmacéutica.

Por tanto, en otro aspecto la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmulas I o II o una de sus sales farmacéuticamente aceptables o uno de sus ésteres hidrolizables *in vivo* y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

55 Las composiciones farmacéuticas de esta invención se pueden administrar de una forma convencional para el estado de enfermedad que se desea tratar, por ejemplo por administración oral, tópica, parenteral, bucal, nasal, vaginal o rectal o por inhalación. Para estos propósitos, los compuestos de esta invención se pueden formular por medios conocidos en la técnica en la forma de, por ejemplo, comprimidos, cápsulas, soluciones acuosas u oleosas, suspensiones, emulsiones, 60 cremas, pomadas, geles, pulverizadores nasales, suppositorios, polvos finamente divididos o aerosoles para inhalación, o para uso parenteral (incluyendo intravenoso, intramuscular o por infusión) soluciones acuosas o soluciones oleosas o suspensiones o emulsiones estériles.

Además de los compuestos de la presente invención, la composición farmacéutica de esta invención también pue- 65 de contener, o se puede administrar de forma conjunta (de forma simultánea o secuencial) con, uno o más agentes farmacológicos de valor en el tratamiento de uno o más estados de enfermedad citados antes en la presente.

ES 2 314 112 T3

Las composiciones farmacéuticas de esta invención se administrarán normalmente a seres humanos de modo que, por ejemplo, se recibe una dosis diaria de 0,5 a 75 mg/kg de peso corporal (y preferiblemente de 0,5 a 30 mg/kg de peso corporal). Esta dosis diaria se puede administrar en dosis divididas según sea necesario, dependiendo la cantidad exacta del compuesto recibida y la vía de administración, del peso, edad y sexo del paciente que se está tratando y del estado particular de enfermedad que se está tratando de acuerdo con principios conocidos en la técnica.

De forma típica, formas de dosis unitaria contendrán de aproximadamente 1 mg a 500 mg de un compuesto de esta invención.

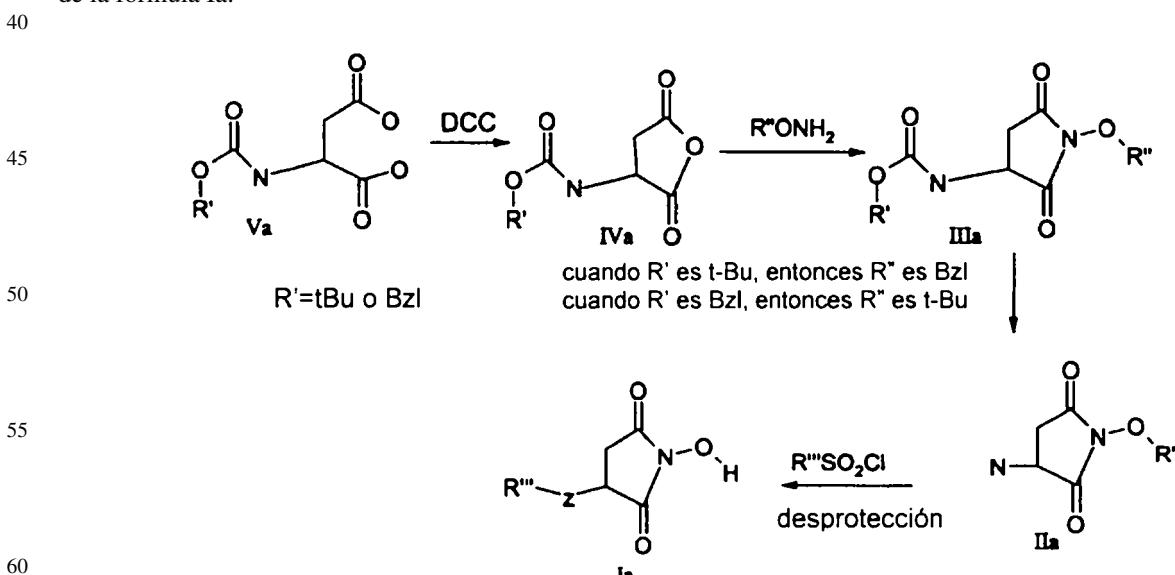
Por tanto, en otro aspecto, la presente invención proporciona un compuesto de las fórmulas I o II o una de sus sales farmacéuticamente aceptables o de sus ésteres hidrolizables *in vivo* para uso en un procedimiento de tratamiento terapéutico del cuerpo de un ser humano o animal o para uso como agente terapéutico. En particular, se describe el uso en el tratamiento de una enfermedad o estado patológico mediado por MMP12 y/o MMP13 y/o MMP9 y/o MMP8 y/o MMP3 y/o aggrecanasa; en especial el uso en el tratamiento de una enfermedad o estado patológico mediado por MMP12. También se describe el uso de un compuesto de las fórmulas I o II o una de sus sales farmacéuticamente aceptables o uno de sus precursores hidrolizables *in vivo* en la preparación de un medicamento para usar en el tratamiento de un estado de enfermedad mediado por una o más enzimas metaloproteínasas.

Estados de enfermedad mediados por metaloproteínasas incluyen asma, rinitis, enfermedades pulmonares obstructivas crónicas (EPOC), artritis (tal como artritis reumatoide y osteoartritis), aterosclerosis y reestenosis, cáncer, invasión y metástasis, enfermedades que implican destrucción de tejido, aflojamiento de prótesis de articulación de cadera, enfermedad periodontal, enfermedad fibrótica, infarto y cardiopatía, fibrosis hepática y renal, endometriosis, enfermedades relacionadas con el debilitamiento de la matriz extracelular, insuficiencia cardíaca, aneurismas aórticos, enfermedades relacionadas con el SNC tales como Alzheimer y Esclerosis Múltiple (EM), trastornos hematológicos.

Preparación de los compuestos de la invención

En otro aspecto la presente invención proporciona procedimientos para preparar un compuesto de las fórmulas I o II o una de sus sales farmacéuticamente aceptables o de sus ésteres hidrolizables *in vivo*, procedimientos que se describen a continuación.

La invención proporciona un procedimiento para preparar un compuesto de la fórmula Ia o una de sus sales farmacéuticamente aceptables o de sus ésteres hidrolizables *in vivo*, procedimiento que comprende convertir un ácido aminodicarboxílico protegido en N de la fórmula Va en un anhídrido de la fórmula IVa mediante la acción de un agente activador de carboxilato, hacer reaccionar el anhídrido de fórmula IVa con una hidroxilamina protegida en O de la fórmula R"ONH₂ para producir un compuesto N-alcoxi de la fórmula IIIa, convertir a una amina de la fórmula IIa seguido por desprotección para formar un compuesto de la fórmula Ia, todo como se muestra a continuación y, opcionalmente y a continuación formar una sal farmacéuticamente aceptable o un éster hidrolizable *in vivo* del compuesto de la fórmula Ia:



en la que:

Z es SO₂N(R₃);

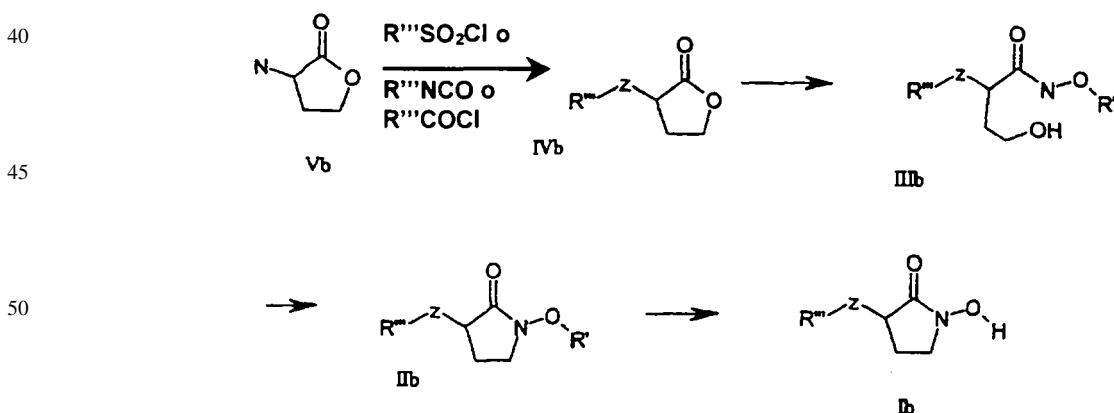
R₃ es H;

ES 2 314 112 T3

R[”] es R5, y R5 es como se describe antes en la presente para el compuesto de la fórmula I;

t-bu es t-butilo; Bzl es bencilo.

- 5 Los compuestos de la fórmula Va contienen el grupo protector R'. Materiales de partida convenientes de fórmula Va incluyen todos los estereoisómeros de t-butil o bencil carbamatos de ácidos aminodicarboxílicos como derivados de ácido α -aspirílico. Se apreciará que se pueden usar otros grupos protectores de N y fuentes de ácidos aminodicarboxílicos.
- 10 Para convertir ácidos dicarboxílicos de fórmula Va en anhídridos de fórmula IVa, agentes activadores de carboxilato adecuados incluyen carbodiimidas, cloruros de acilo, cloruros de fosforilo y cloroformiatos de alquilo. Con preferencia, se usan carbodiimidas como diciclohexilcarbodiimida o diisopropilcarbodiimida o BOP-Cl (bis-(2-oxazolidinon-1-il)fosforiloxicloruro) en diclorometano o tetrahidrofurano.
- 15 Los compuestos de la fórmula R[”]ONH₂ (hidroxilaminas protegidas en O) contienen el grupo protector R[”], en el que R[”] no es de reactividad similar a R' debido a la necesidad de retirar R' y R[”] de forma independiente en una etapa posterior del procedimiento. Con preferencia, hidroxilaminas protegidas en O en las que R[”] es t-butilo, bencilo, 4-metoxibencilo y t-butildimetilsililo se calientan con compuestos de fórmula IVa en disolventes aromáticos como benceno, tolueno o xilenos a 80°C hasta temperatura de refluxo durante 5-24 h para producir compuesto N-alcoxi de fórmula IIIa. El grupo protector R[”] se retira entonces para producir las aminas de fórmula IIa en forma de base libre o las sales correspondientes. La elección de las condiciones de reacción para retirar R[”] es evidente para los expertos en la técnica. Después de la reacción de las aminas de fórmula IIa con cloruros de sulfonilo o cloruros de sulfamoilo R[”]SO₂Cl, (la preparación de nuevos cloruros de sulfamoilo se describe en los Ejemplos), preferiblemente en presencia de bases estéricamente impedidas como trietilamina, diisopropiletilamina, lutidina y similares, en disolventes apróticos polares como diclorometano, tetrahidrofurano o dimetilformamida a 20-80°C o calentado por golpes repetidos (2-20x) (5-20s) de energía de microondas (50-250W) en un recipiente sellado, seguido por la desprotección por procedimientos convencionales tales como hidrogenación catalítica o acción de ácidos como ácido trifluoracético, proporciona los compuestos de fórmula Ia.
- 20
- 25
- 30 En otro aspecto, la presente invención proporciona un procedimiento para preparar un compuesto de la fórmula Ib o una de sus sales farmacéuticamente aceptables o de sus ésteres hidrolizables *in vivo*, comprendiendo el procedimiento acilar o sulfonilar una homoserina lactona de fórmula Vb para formar un compuesto de la fórmula IVb, hidroxiaminolisis para formar un compuesto de la fórmula IIIb, conversión a una N-alcoxi lactama de fórmula IIb, tratamiento opcional con un agente de alquilación de la fórmula R4-halógeno o R4-éster sulfonato, y desprotección para formar un compuesto de la fórmula Ib, como se describe más adelante, y opcionalmente después formar una sal farmacéuticamente aceptable o éster hidrolizable *in vivo* del compuesto de la fórmula Ib:
- 35



en la que:

Z es SO₂N(R3);

60 R3 es como se describe antes en la presente para el compuesto de la fórmula I;

R[”] es R5, y R5 es como se describe antes en la presente para el compuesto de la fórmula I.

65 Homoserina lactonas de fórmula Vb (Flanagan, D. M. and Martin, L. L., 1992, patente de Estados Unidos número 5153193); Williams, B. J. *et al*, 1989, J. Chem. Soc., Chem. Commun. 22: 1740-2; Lesson, P. D. and Williams, B. J., patente europea número 318091) se sulfonilan por procedimientos convencionales, seguido por hidroxiaminolisis del derivado de lactona resultante de fórmula IVb, preferiblemente con el aluminato formado a partir de hidrocloruro de

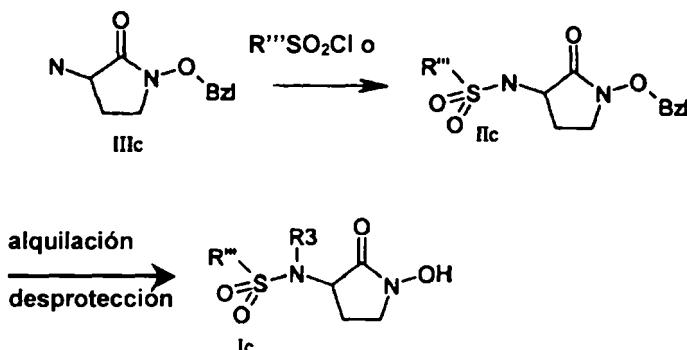
hidroxilamina y trimetil aluminio en disolventes aromáticos tales como benceno y tolueno a temperatura de reflujo, para producir el derivado de ácido hidroxámico IIIb. La conversión de compuestos de fórmula IIIb a las N-alcoxi lactamas de fórmula IIb es posible mediante activación del hidroxilo como éster sulfonato o mediante conversión al haluro seguido por tratamiento con base, o sometiendo los alcoholes de fórmula IIIb a las condiciones de Mitsonobu.

- 5 Con preferencia, la conversión al cloruro mediante la acción de trifenilfosfina y tetracloruro de carbono y posterior tratamiento con hidruro sódico en diclorometano a temperatura ambiente durante 2 a 24 horas proporciona compuestos de fórmula IIb. Otro procedimiento preferido es tratar los alcoholes IIIb con trifenil fosfina y azodicarboxilato de dietilo en tetrahidrofurano (Mitsonobu) de -20 a 0°C durante 2-24 h. Las N-alcoxi lactamas de fórmula IIb preparadas de este modo se pueden tratar opcionalmente con agentes alquilantes R4-halógeno o R4-éster sulfonato (R4 es como se ha descrito antes en la presente) antes de desprotección (retirada de R') por procedimientos convencionales proporcionando compuestos de fórmula Ib.

En otro aspecto, la presente invención proporciona un procedimiento para preparar un compuesto de la fórmula Ic o una de sus sales farmacéuticamente aceptable o uno de sus ésteres hidrolizables *in vivo*, procedimiento que comprende acilar o sulfonilar un compuesto de la fórmula IIIc para formar un compuesto de la fórmula IIc, alquilación opcional y desprotección para formar un compuesto de la fórmula Ic, como se describe más adelante, y opcionalmente a continuación formar una sal farmacéuticamente aceptable o éster hidrolizable *in vivo* del compuesto de la fórmula Ic:

20

25



30

35

en la que:

- 40 R3 es como se describe antes en la presente para el compuesto de la fórmula I;
 R''' es R5, y R5 es como se describe antes en la presente para el compuesto de la fórmula I;
 Bzl es bencilo.

45

La sulfonilación o acilación de compuestos de fórmula IIIc por procedimientos convencionales produce compuestos de fórmula IIc. Estos se pueden alquilar opcionalmente por haluros de alquilo (R3-halógeno) tales como yoduro de metilo, yoduro de isopropilo, bromuro de bencilo, cloruro de 3-piridilmetilo y similares, en condiciones básicas convencionales, o en condiciones de Mitsonobu (diazocarbonatos, fosfinas) con alcoholes (R3-OH), antes de la desprotección por procedimientos convencionales para formar compuestos de fórmula Ic.

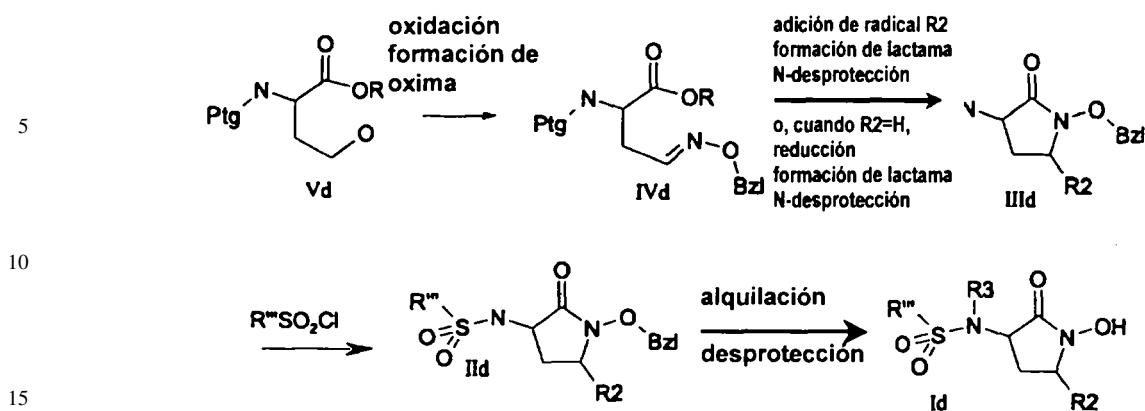
50

En otro aspecto, la presente invención proporciona un procedimiento para preparar un compuesto de la fórmula Id o una de sus sales farmacéuticamente aceptables o uno de sus ésteres hidrolizables *in vivo*, procedimiento que comprende acilar o sulfonilar un compuesto de la fórmula IIId para formar un compuesto de la fórmula IId, alquilación opcional y desprotección para formar un compuesto de la fórmula Id, como se describe más adelante, y opcionalmente a continuación formar una sal farmacéuticamente aceptable o éster hidrolizable *in vivo* del compuesto de la fórmula Id: Los compuestos de fórmula IIId se pueden preparar a partir de derivados de homoserina protegidos en los que Ptg y R son preferiblemente estables en medio ácido:

60

65

ES 2 314 112 T3



en las que:

Ptg es un grupo protector, preferiblemente Boc; cuando Ptg es el residuo $R'''SO_2$, se omite la etapa IIId a Id;

R es cualquier grupo alquilo o arilo, preferiblemente metilo o etilo;

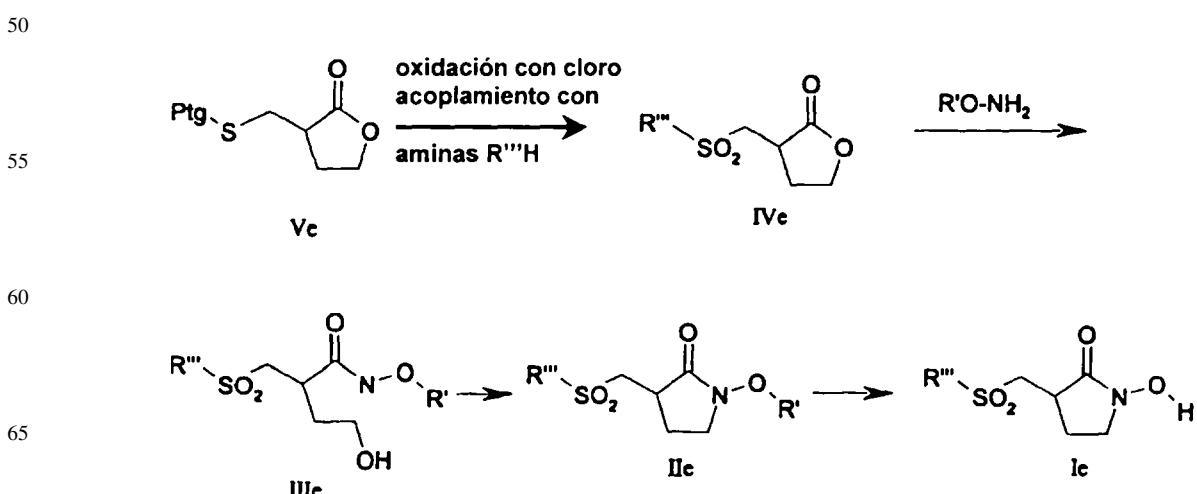
R2 es H y R3 es como se describe antes en la presente para el compuesto de la fórmula I;

$R'''SO_2$ es R_5 , y R5 es como se describe antes en la presente para el compuesto de la fórmula I;

Bzl es bencilo.

Aldoximas de fórmula IVd se preparan convenientemente a partir de derivados de homoserina protegidos Vd. La adición reductora de radicales alquilo a compuestos de fórmula IVd da intermedios de benciloxiamino que forman de manera espontánea los correspondientes derivados lactama tras procesado o tratamiento débilmente básico. De forma alternativa, las aldoximas IVd ($R_2=H$) se reducen a los intermedios benciloxiamino correspondientes. La posterior desprotección del grupo amino da entonces derivados de aminolactama IIId. La sulfonilación de compuestos de fórmula IIId por procedimientos convencionales produce compuestos de fórmula IIId. Estos se pueden alquilar opcionalmente por haluros de alquilo (R_3 -haluro) tales como yoduro de metilo, yoduro de isopropilo, bromuro de bencilo, cloruro de 3-piridilmetilo y similares, en condiciones básicas convencionales, o en condiciones de Mitsunobu (diazocarbonatos, fosfinas) con alcoholes (R_3 -OH), antes de la desprotección por procedimientos convencionales para formar compuestos de fórmula Id.

En otro aspecto la presente invención proporciona un procedimiento para preparar un compuesto de la fórmula Ie o una de sus sales farmacéuticamente aceptables o de sus ésteres hidrolizables *in vivo*, procedimiento que comprende oxilación con cloro del compuesto de fórmula Ve, seguida por acoplamiento del cloruro de sulfonilo formado con aminas para formar un compuesto de la fórmula IVe, cuya hidroxilaminolisis da hidroxamatos protegidos de fórmula IIIe. La ciclación a compuestos de fórmula IIe y desprotección para formar un compuesto de ácido hidroxámico cíclico de la fórmula Ie, como se describe más adelante, y opcionalmente seguidamente formar una sal farmacéuticamente aceptable o un éster hidrolizable *in vivo* del compuesto de la fórmula Ie:



ES 2 314 112 T3

en la que:

Ptg es un grupo protector, preferiblemente fácilmente oxidado tal como bencilo, isopropilo o un sulfuro de alquilo que comprende así un disulfuro en el enlace Ptg-S.

5 R' es un grupo protector, preferiblemente t-butilo.

R'' es una amina primaria o secundaria, preferiblemente una amina secundaria cíclica sustituida R5H; o una amina primaria NH₂R5, y R5 es como se describe antes en la presente para el compuesto de la fórmula I;

10 Así, se oxidan sulfuros de fórmula Ve con cloruro, preferiblemente en agua o agua/ácido acético o agua/dioxano, preferiblemente enfriada hasta 0-10°C. Los intermedios de cloruro de sulfonylo se pueden aislar o aislar parcialmente eliminando los volátiles a vacío, seguido por reacción con aminas R''H en disolventes apróticos y bases, preferiblemente THF o DMF y carbonato potásico o dietilisopropil amina. Hidroxilaminolisis del derivado de lactona resultante de fórmula IVe, preferiblemente con el aluminato formado a partir de hidrocloruro de hidroxilamina y trimetil aluminio en disolventes aromáticos tales como benceno y tolueno a temperatura de reflujo, para producir el derivado de ácido hidroxámico IIIe. La conversión de compuestos de fórmula IIIb a las N-alcoxi lactamas de fórmula IIe es posible mediante activación del hidroxilo como éster sulfonato o mediante conversión al haluro seguido por tratamiento con base, o sometiendo los alcoholes de fórmula IIIe a las condiciones de Mitsonobu. Con preferencia, la conversión al 15 cloruro mediante la acción de trifénilfosfina y tetracloruro de carbono y posterior tratamiento con hidruro sódico en diclorometano a temperatura ambiente durante 2 a 24 horas proporciona compuestos de fórmula IIe. Otro procedimiento preferido es tratar los alcoholes IIIe con trifénil fosfina y azodicarboxilato de dietilo en tetrahidrofurano (Mitsonobu) de -20 a 0°C durante 2-24 h.

20 25 Como alternativa, el orden y condiciones en la secuencia IVe-IIe se pueden modificar para permitir una mayor facilidad para obtener diversidad en la porción R'': Los sulfuros de fórmula Ve (Ptg es BzL) se oxidan a la sulfona (cuando R'' es todavía el Ptg de fórmula Ve) de fórmula IVe por reaccionantes peróxido tales como peróxido de hidrógeno, Oxone™, MCPBA, luego se llevan a las etapas IVe a IIe hasta las N-alcoxi lactamas correspondientes. La 30 oxidación con cloro a cloruros de sulfonylo seguida por acoplamiento con aminas y desprotección también proporciona compuestos de fórmula Ie.

Para todos los procedimientos descritos antes, se apreciará que muchos de los materiales de partida relevantes están disponibles de forma comercial o disponibles de cualquier otro modo o se pueden sintetizar por procedimientos conocidos o se pueden encontrar en la bibliografía científica.

35 Los compuestos de la invención se pueden evaluar por ejemplo en los siguientes ensayos:

40 *Ensayos de enzimas aisladas*

45 Familia de Metaloproteinasas de Matriz que incluyen por ejemplo MMP12, MMP13

Se puede expresar y purificar el dominio catalítico de MMP12 recombinante humana como se describe por Parkar A.A. *et al.*, (2000), Protein Expression and Purification, 20:152. La enzima purificada se puede usar para controlar 50 inhibidores de actividad como sigue: se incuba MMP12 (50 ng/ml de concentración final) durante 30 minutos a TA en tampón de ensayo (Tris-HCl 0,1M, pH 7,3 que contenía NaCl 0,1M, CaCl₂ 20 mM, ZnCl 0,040 mM y 0,05% (p/v) de Brij 35) usando el sustrato de síntesis Mc-Pro-Cha-Gly-Nva-His-Ala-Dpa-NH₂ en presencia o ausencia de inhibidores. La actividad se determina midiendo la fluorescencia a λ_{ex} 328 nm y λ_{em} 393 nm. La inhibición porcentual se calcula como sigue: % de Inhibición es igual a la [Fluorescencia_{más inhibidor} - Fluorescencia_{de fondo}] dividida por la [Fluorescencia_{menos inhibidor} - Fluorescencia_{de fondo}].

La proMMP13 humana recombinante se puede expresar y purificar como se describe por Knauper *et al.* [V. Knauper *et al.*, (1996) The Biochemical Journal 271:1544-1550 (1996)]. La enzima purificada se puede usar para controlar inhibidores de actividad como sigue: se activa proMMP13 purificada usando ácido amino fenil mercúrico (APMA) 55 1 mM, 20 horas a 21°C; se incuba la MMP13 activada (11,25 ng por ensayo) durante 4 a 5 horas a 35°C en tampón de ensayo (Tris-HCl 0,1M, pH 7,5 que contenía NaCl 0,1M, CaCl₂ 20 mM, ZnCl 0,02 mM y 0,05% (p/v) de Brij 35) usando el sustrato de síntesis 7-metoxicumarin-4-ilacetilo.Pro.Leu.Gly.Leu.N-3-(2,4-dinitrofenil)-L-2,3-diaminopropionilo.Ala.Arg.NH₂ en presencia o ausencia de inhibidores. La actividad se determina midiendo la fluorescencia a λ_{ex} 328 nm y λ_{em} 393 nm. La inhibición porcentual se calcula como sigue: % de Inhibición es igual a la [Fluorescencia_{más inhibidor} - Fluorescencia_{de fondo}] dividida por la [Fluorescencia_{menos inhibidor} - Fluorescencia_{de fondo}].

60 Se puede usar un protocolo similar para otras proMMP expresadas y purificadas usando sustratos y condiciones de tampones óptimas para la MMP particular, por ejemplo, como se describe en C. Graham Knight *et al.*, (1992) FEBS Lett. 296(3):263-266.

ES 2 314 112 T3

Familia de adamalisina incluyendo por ejemplo TNF convertasa

Se puede valorar la capacidad de los compuestos para inhibir la enzima proTNF α convertasa usando un ensayo de enzima aislada parcialmente purificada, obteniéndose la enzima de las membranas de THP-1 como se describe por K. M. Mohler *et al.*, (1994) Nature 370:218-220. La actividad de la enzima purificada y su inhibición se determinan incubando la enzima parcialmente purificada en presencia o ausencia de compuestos de ensayo usando el sustrato 4',5'-Dimetoxi-fluoresceinil Ser.Pro.Leu.Ala.Gln.Ala.Val.Arg.Ser.Ser.Arg.Cys(4-(3-succinimid-1-il)-fluoresceína)-NH₂ en tampón de ensayo (Tris HCl 50 mM pH 7,4 que contenía 0,1% (p/v) de Triton X-100 y CaCl₂ 2 mM), a 26°C durante 18 horas. El grado de inhibición se determina como para MMP13 salvo que se usaron λ_{ex} 490 nm y λ_{em} 530 nm. El sustrato se sintetizó como sigue. Se ensambla la parte peptídica del sustrato sobre resina Fmoc-NH-Rink-MBHA-poliestireno de forma manual o usando un sintetizador de péptidos automatizado por procedimientos convencionales que requieren el uso de F-moc-aminoácidos y hexafluorofosfato de O-benzotriazol-1-il-N,N,N',N'-tetrametiluronio (HBTU) como agente de acoplamiento con al menos un exceso de 4 ó 5 veces de F-moc-aminoácido y HBTU. Se acoplaron por duplicado Ser¹ y Pro². Se empleó la siguiente estrategia de protección de cadenas laterales; Ser¹(But), Gln⁵(Tritil), Arg^{8,12}(Pmc o Pbf), Ser^{9,10,11}(Tritil), Cys¹³(Tritil). Después del ensamblaje, se retiró el grupo protector Fmoc del N-terminal tratando la Fmoc-peptidil-resina con DMF. La amino-peptidil-resina así obtenida se aciló por tratamiento durante 1,5-2 hr a 70°C con 1,5-2 equivalentes de ácido 4',5'-dimetoxi-fluoresceína-4(5)-carboxílico [Khanna & Ullman, (1980) Anal Biochem. 108:156-161] que se había preactivado con diisopropilcarbodiimida y 1-hidroxibenzotriazol en DMF]. A continuación se desprotegió simultáneamente la dimetoxifluoresceinil-péptido y se separó de la resina por tratamiento con ácido trifluoracético que contenía 5% de agua y triethylsilano. El dimetoxifluoresceinil-péptido se aisló por evaporación, trituración con éter dietílico y filtración. El péptido aislado se hizo reaccionar con 4-(N-maleimido)-fluoresceína en DMF que contenía diisopropiletilamina, el producto purificado por RP-HPLC y se aisló finalmente por secado por pulverización de ácido acético acusoso. El producto se caracterizó por MS de MALDI-TOF (Espectrometría de Masas con Desorción/Ionización mediante Láser asistida por Matriz-Tiempo de Vuelo) y análisis de aminoácidos.

Sustratos naturales

La actividad de los compuestos de la invención como inhibidores de la degradación de aggrecano se puede ensayar usando procedimientos basados, por ejemplo, en las descripciones de E. C. Arner *et al.*, (1998) Osteoarthritis and Cartilage 6:214-228; (1999) Journal of Biological Chemistry, 274(10), 6594-6601 y los anticuerpos descritos en la misma. La potencia de los compuestos para actuar como inhibidores frente a collagenasas se puede determinar como se describe por T. Cawston and A. Barrett (1979) Anal. Biochem. 99:340-345.

35 Inhibición de la actividad de metaloproteinasa en la actividad basada en células/tejidos

Ensayo como agente para inhibir convertasas de membrana tal como TNF convertasa

Se puede ensayar la capacidad de los compuestos de esta invención para inhibir el procesado celular de la producción de TNF α en células THP-1 usando un ELISA para detectar TNF liberado básicamente como se describe por K. M. Mohler *et al.*, (1994) Nature 370:218-220. De una forma similar, el procesado o desprendimiento de otras moléculas de membrana tal como se describe en N. M. Hooper *et al.*, (1997) Biochem. J. 321:265-279 se puede ensayar usando líneas de células apropiadas y con anticuerpos adecuados para detectar la proteína escindida.

45 Ensayo como un agente para inhibir la invasión basada en células

La capacidad del compuesto de esta invención para inhibir la migración de células en un ensayo de invasión se puede determinar como se describe en A. Albini *et al.*, (1987) Cancer Research 47:3239-3245.

50 Ensayo como un agente para inhibir la actividad de TNF convertasa en sangre entera

La capacidad de los compuestos de esta invención para inhibir la producción de TNF α se valora en un ensayo en sangre entera humana en el que se usa LPS para estimular la liberación de TNF α . Se diluye sangre humana heparinizada (10 Unidades/ml) de voluntarios 1:5 con medio (RPMI1640 + bicarbonato, penicilina, estreptomicina y glutamina) y se incuba (160 μ l) con 20 μ l de compuesto de ensayo (por triplicado), en DMSO o vehículo apropiado, durante 30 min a 37°C en un incubador humidificado (5% de CO₂/95% de aire), antes de la adición de 20 μ l de LPS (*E. coli*, 0111:B4; concentración final 10 μ g/ml). Cada ensayo incluye controles de sangre diluida incubados solo con medio (6 pocillos/placa) o un inhibidor de TNF α conocido como patrón. Las placas se incuban a continuación durante 6 horas a 37°C (incubador humidificado), se centrifugan (2000 rpm durante 10 min; 4°C), se recoge el plasma (50-100 μ l) y se almacenan en placas de 96 pocillos a -70°C antes del posterior análisis para determinar la concentración de TNF α por ELISA.

*Ensayo como un agente para inhibir la degradación de cartílago *in vitro**

65 La capacidad de los compuestos de esta invención para inhibir la degradación de los componentes aggrecano o colágeno del cartílago se puede determinar básicamente como se describe por K. M. Bottomley *et al.*, (1997) Biochem J. 323:483-488.

ES 2 314 112 T3

Ensayo farmacodinámico

Para evaluar las propiedades de aclaramiento y biodisponibilidad de los compuestos de esta invención se emplea un ensayo farmacodinámico *ex vivo* que utiliza los ensayos de sustrato sintético anteriores o, como alternativa análisis HPLC o de espectrometría de masas. Este es un ensayo genérico que se puede usar para estimar la velocidad de aclaramiento de compuestos a través de una diversidad de especies. Se dosifica a los animales (por ejemplo, ratas, titis) iv o po con una formulación soluble de compuesto (tal como 20% p/v de DMSO, 60% p/v de PEG400) y a posteriores puntos de tiempo (por ejemplo 5, 15, 30, 60, 120, 240, 480, 720, 1220 mins) se extraen las muestras de sangre de una vena apropiada en 10U de heparina. Las fracciones de plasma se obtienen después de centrifugación y las proteínas plasmáticas precipitan con acetonitrilo (80% p/v de concentración final). Después de 30 mins a -20°C las proteínas plasmáticas se sedimentan por centrifugación y se evapora la fracción sobrenadante hasta sequedad usando un Savant speed vac. El sedimento se reconstituye en tampón de ensayo y seguidamente se analiza para determinar el contenido en compuesto usando el ensayo de sustrato sintético. En resumen, se construye una curva de concentración de compuesto-respuesta para el compuesto que se somete a evaluación. Se valoran diluciones en serie de los extractos de plasma reconstituidos para determinar la actividad y la cantidad de compuesto presente en la muestra de plasma original usando la curva de concentración-respuesta teniendo en cuenta el factor de dilución de plasma total.

Valoración in vivo

20 Ensayo como agente anti-TNF

La capacidad de los compuestos de esta invención como inhibidores de TNF α *ex vivo* se valora en la rata. En resumen, se dosifican grupos de ratas macho Wistar Alderley Park (AP) (180-210 g) con compuesto (6 ratas) o vehículo (10 ratas) por la vía adecuada, por ejemplo peroral (p.o.), intraperitoneal (i.p.), subcutánea (s.c.). Noventa minutos 25 después se sacrifican las ratas usando una concentración creciente de CO₂ y se sangran por la vena cava posterior en 5 Unidades de heparina sódica/ml de sangre. Las muestras de sangre se colocan inmediatamente en hielo y se centrifugan a 2000 rpm durante 10 minutos a 4°C y los plasmas recogidos se congelan a -20°C para el análisis posterior 30 en su efecto sobre la producción de TNF α por sangre humana estimulada con LPS. Las muestras de plasma de rata se descongelan y se añaden 175 μ l de cada muestra a una configuración de formato fijo en una placa de 96 pocillos. Se añaden entonces cincuenta μ l de sangre humana heparinizada a cada pocillo, se mezcla y se incuba la placa durante 30 minutos a 37°C (incubador humidificado). LPS (25 μ l; concentración final 10 μ g/ml) se añade a los pocillos y la incubación continúa durante otras 5,5 horas. Los pocillos control se incuban con 25 μ l de medio solo. Las placas se centrifugan a continuación durante 10 minutos a 2000 rpm y se transfieren 200 μ l de los sobrenadantes a una placa de 96 pocillos y se congelan a -20°C para el posterior análisis de TNF por ELISA.

35 El análisis de los datos por un software dedicado calcula para cada compuesto/dosis: Inhibición porcentual de TNF α = $\frac{\text{TNF}\alpha \text{ media (controles)} - \text{TNF}\alpha \text{ media (Tratados)}}{\text{TNF}\alpha \text{ media (Controles)}} \times 100$

40 Ensayo como agente antiartrítico

La actividad de un compuesto como agente antiartrítico se ensaya en la artritis inducida por colágeno (CIA) como se define por D. E. Trentham *et al.*, (1977) J. Exp. Med. 146,:857. En este modelo el colágeno tipo II soluble en ácido 45 causa poliartritis en ratas cuando se administra en adyuvante incompleto de Freunds. Se pueden usar condiciones similares para inducir artritis en ratones y primates.

45 Ensayo como agente anticáncer

La actividad de un compuesto como agente anticáncer se puede valorar básicamente como se describe en I. J. Fidler (1978) Methods in Cancer Research 15:399-439, usando por ejemplo la línea celular B16 (descrita en B. Hibner *et al.*, 50 Abstract 283 págs 75 10º NCI-EORTC Symposium, Amsterdam 16 -19 de Junio 1998).

Ensayo como agente antienfisema

La actividad de un compuesto como agente antienfisema se puede valorar básicamente como se describe en Hau-55 tamaki *et al* (1997) Science, 277: 2002.

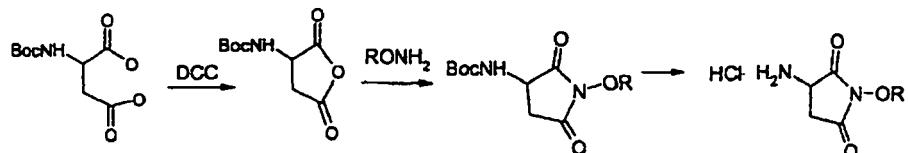
La invención se ilustrará a continuación, pero sin quedar limitada a los mismos, por los siguientes Ejemplos.

En los ejemplos, los espectros de masas de baja resolución y la determinación de masas exacta se registraron 60 en un sistema LC-MS Hewlett-Packard 1100 equipado con cámara de ionización APCI. Los espectros de RMN se tomaron en una unidad Varian 400 (400 MHz) con TMS como patrón interno. Todos los disolventes y reaccionantes comerciales eran de calidad de laboratorio y se usaron tal como se recibieron.

Las abreviaturas usadas incluyen: AcOH ácido acético; DCC diciclohexilcarbodiimida; DCM diclorometano; EtOAc acetato de etilo; TEA trietilamina; DIPEA diisopropil etilamina; TBME- éter terc.butil metílico; THF tetrahidrofurano; Boc *terc*-butiloxicarbonilo; TA temperatura ambiente; TLC cromatografía en capa fina; LC/MS cromatografía líquida/espectrometría de masas; DMSO dimetil sulfóxido; DMSO-D6 dimetil sulfóxido deuterado; PPh₃ trifenilfosfina; DEAD azodicarboxilato de dietilo.

Síntesis de materiales de partida*3-Amino pirrolidinonas y pirrolidindionas*

5 Algunos materiales basados en succinilo se prepararon de acuerdo con el esquema siguiente (modificado de Witiak, D. T. et al, 1971, J. Med. Chem. 14(1): 24-30):



15 Se disolvió el amino ácido N-Boc protegido correspondiente (0,025 mol) en diclorometano y se enfrió hasta -20°C en un tubo de clorocalcio. Seguidamente, se añadió DCC (5,15 g, 0,025 mol) de una vez y la mezcla se agitó durante 3 horas y se dejó que alcanzara la temperatura TA. Se filtró diciclohexilurea y se lavó con pequeñas porciones de DCM y se añadieron 0,025 g de la hidroxilamina O-protectora (derivado bencílico o *terc*-butílico), seguido por 3,4 ml (0,026 mol) de trietilamina. La mezcla se agitó durante 2 horas a TA, se evaporó hasta sequedad, se distribuyó entre acetato de etilo y NaHCO₃ acuoso saturado, se volvió a extraer la fase acuosa con 5 porciones de acetato de etilo, se lavaron los extractos orgánicos agrupados con agua, salmuera, se secaron sobre sulfato de magnesio, se evaporaron y se calentaron en 30 ml de tolueno a reflujo durante 8 horas. Despues de enfriar la mezcla de reacción el compuesto cristalizó. Se filtró y se secó a vacío. Se prepararon los Boc-derivados:

25

A) *1-(terc-butoxi)-2,5-dioxo-3-(R)-pirrolidinilcarbamato de t-butilo*

30 RMN de ¹H (cloroformo): 1,22 s (9H), 1,28 s (9H), 2,80m (1,1H) y 3,05 m (1H) (CH₂), 4,25 m (1H) (CH-N), 5,5 s ancho (1,2H), (NH).

B) *1-(terc-butoxi)-2,5-dioxo-3-(S)-pirrolidinilcarbamato de t-butilo*

35 RMN de 1H (cloroformo): 1,22 s (9H), 1,28 s (9H), 2,80m (1,1H) y 3,05 m (1H) (CH₂), 4,25 m (1H) (CH-N), 5,5 s ancho (1,2H), (NH).

C) *1-(benciloxi)-2,5-dioxo-3-(R)-pirrolidinilcarbamato de t-butilo*

40 RMN de 1H (Cloroformo): 1,55 s (9H), 2,75m (1,1H), 3,1s (1H), CH₂, 4,15m (0,9H) CH-N, 5,1 s (2H), 7,65 m (5H).

D) *1-(benciloxi)-2,5-dioxo-3-(S)-pirrolidinilcarbamato de t-butilo*

RMN de 1H (cloroformo): 1,55 s (9H), 2,75m (1,1H), 3,1s (1H), CH₂, 4,15m (0,9H) CH-N, 5,1 s (2H), 7,65 m (5H).

50 Se disolvió cada BOC-derivativo (2 mmol) en 30 ml de HCl 4N en dioxano. La mezcla se agitó suavemente durante 30 minutos. El precipitado blanco se disolvió. Seguidamente se añadieron 70 ml de éter dietílico y la mezcla se almacenó en el refrigerador durante 3 horas. El precipitado blanco espeso se filtró, se lavó con éter y se secó a vacío. Se prepararon los siguientes compuestos hidrocloruro:

55

E) *Hidrocloruro de R-3-amino-1-(benciloxi)-2,5-pirrolidindiona*

Se usó el BOC-derivativo C en el procedimiento general anterior.

60 RMN de 1H: (cloroformo) 1,36s (9H), 3,62 m (1,1H), 3,9m (0,8H), 4,25 (1,1H).

F) *Hidrocloruro de S-3-amino-1-(benciloxi)-2,5-pirrolidindiona*

65 Se usó el BOC-derivativo D en el procedimiento general anterior.

RMN de ¹H: (cloroformo) 1,36s (9H), 3,62 m (1,1H), 3,9m (0,8H), 4,25 (1,1H).

ES 2 314 112 T3

G) Hidrocloruro de R-3-amino-1-(terc-butoxi)-2,5-pirrolidindiona

Se usó el BOC-derivativo A en el procedimiento general anterior.

5 RMN de ^1H (cloroformo): 2,60dd (1,2H), 3,2c (0,9H), 4,4m (1H), 5,1s (2H), 7,5 m (5H).

H) Hidrocloruro de S-3-amino-1-(terc-butoxi)-2,5-pirrolidindiona

10 Se usó el BOC-derivativo B en el procedimiento general anterior.

RMN de ^1H (cloroformo): 2,60dd (1,2H), 3,2c (0,9H), 4,4m (1H), 5,1s (2H), 7,5 m (5H).

I) Trifluoracetato de (3R)-3-amino-1-benciloxi-pirrolidin-2-ona

15 Se preparó como se escribe en el documento EP0318 091.

20 Preparación alternativa de 3-amino-1-benciloxi-pirrolidin-2-onas quirales:

J) (2R)-4-[(benciloxi)amino]-7-2-[(terc-butoxi-carbonil)amino]butanoato de metilo

25 J1) A una solución agitada de (2R)-4-[(benciloxi)imino]-2-[(terc-butoxicarbonil)-amino]butanoato de metilo (1,7 g, 5,0 mmol) y metanol seco (50 ml) se añadió cianoborohidruro sódico (0,31 g, 5,0 mmol) seguido por la adición gota a gota de una solución 1M de ácido 4-toluenosulfónico (N.B. agua cristalizada presente en ácido 4-toluenosulfónico comercial tiene que ser eliminado por evaporación azeotrópica con benceno o tolueno antes de usar) en metanol seco a una velocidad tal que se mantiene el pH de la mezcla a 3-4 (papel indicador húmedo). Despues de agitar a 22°C durante 2,5 horas la TLC y LC indicaron una reacción completa. Se separó el metanol por evaporación rotatoria dejando un sólido blanco que se suspendió en acetato de etilo (100 ml), se lavó con solución saturada de bicarbonato sódico y salmuera y se secó sobre sulfato sódico anhidro. La filtración y concentración por evaporación rotatoria dieron 1,7 g de un producto bruto que se sometió a cromatografía sobre sílice con acetato de etilo/n-heptano (1:5 a 1:3) como eluyentes. Para eliminar las trazas de O-bencilhidroxilamina del producto se sometió éste a cromatografía una vez más sobre sílice usando diclorometano y diclorometano/metanol (98:2) como eluyentes proporcionando 0,83 g (49% de rendimiento) del compuesto del subtítulo como un aceite incoloro. MS (APCI) m/z 339 (M+1). RMN de ^1H (CDCl_3) δ 7,40-7,27 (m, 5H), 5,47 (d ancho, $J = 8$ Hz, 1H), 4,74 (s, 2 H), 4,41-4,31 (m, 1H), 3,72 (s, 3H), 3,10-2,93 (m, 2H), 2,20-2,05 (m, 1H), 1,88-1,78 (m, 1H) y 1,43 (s, 9H) ppm.

40 J2) Se agitaron (2R)-4-[(benciloxi)amino]-2-[(terc-butoxi-carbonil)amino]butanoato de metilo (0,74 g, 2,2 mmol), metanol seco (27 ml) y metóxido sódico 0,71 M en metanol (0,31 ml, 0,22 mmol) en nitrógeno seco a 22°C durante 3 horas, se neutralizó con ácido acético al 10% y se concentró por evaporación rotatoria dando un sólido blanco. Este se volvió a disolver en diclorometano (10 ml), se mezcló con sílice (2 g), se concentró y se aplicó a una columna de sílice. La solución con acetato de etilo/n-heptano (1:4 a 1:1) dio 0,55 g (82% de rendimiento) del compuesto del subtítulo como un sólido blanco.

50 MS (APCI) m/z 206 (M-99). RMN de ^1H (CDCl_3) δ 7,45-7,35 (m's, 5H), 5,03 (d, $J = 10$ Hz, 1H), 5,02 (s ancho, 1H), 4,97 (d, $J = 10$ Hz, 1H), 4,14-4,02 (m, 1H), 3,25-3,17 (m's, 2H), 2,55-2,40 (m, 1H), 1,77 (ddd, $J_1 = 9$ Hz, $J_2 = 12$ Hz, $J_3 = 19$ Hz; 1H) y 1,44 (s, 9H) ppm. Cromatografía quiral [Chiraldak AD (250 mm x 4,6 mm) con etanol-isohexano (65:35) como eluyente a un caudal de 0,45 ml/min]: tiempo de retención: 11,4 minutos (89% de e.e. (exceso enantiomérico)).

55 Sal del ácido trifluoracético de (3R)-3-amino-1-benciloxi-pirrolidin-2-ona

Se agitó a 22°C durante 60 minutos una solución de (3R)-1-(benciloxi)-2-oxopirrolidinil-3-carbamato de terc-butilo (0,54 g, 1,8 mmol), ácido trifluoracético (5 ml) y diclorometano (15 ml) y luego se concentró por evaporación rotatoria dando el compuesto del título como un sólido blanquecino. MS (APCI) m/z 207 (M+1). RMN de ^1H (CD_3OD) δ 7,50-7,37 (m's, 5H), 5,02 (d, $J = 11$ Hz, 1H), 4,99 (d, $J = 11$ Hz, 1H), 4,03 (t, $J = 9$ Hz, 1H), 3,56-3,46 (m, 2H), 2,56-2,47 (m, 1H) y 2,03-1,92 (m, 1H) ppm.

K) Sal del ácido trifluoracético de (3S)-3-amino-1-benciloxi-pirrolidin-2-ona

65 Se preparó (2S)-4-[(benciloxi)imino]-2-[(terc-butoxicarbonil)amino]butanoato de metilo como se describe para (2R)-4-[(benciloxi)imino]-2-[(terc-butoxicarbonil)-amino]butanoato de metilo en J1) cambiando el material de partida de D- a L-homoserina. Este material se somete entonces a las operaciones descritas en J2) antes. (3S)-1-(benciloxi)-

ES 2 314 112 T3

2-oxopirrolidinil-3-carbamato de *terc*-butilo Cromatografía quiral [Chiralpak AD (250 mm x 4,6 mm) con etanol-isohexano (65:35) como eluyente a un caudal de 0,45 ml/min]: tiempo de retención: 12,9 minutos (88% e.e.). El tratamiento de este material como se describe en el Ejemplo J dio el compuesto del título como un sólido blanco

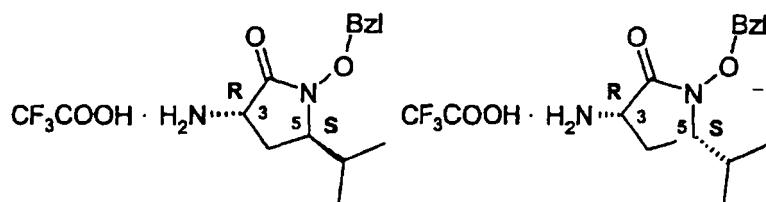
- 5 MS (APCI) m/z 207 (M+1). RMN de ^1H (CD_3OD) δ 7,50-7,37 (m's, 5H), 5,02 (d, $J= 11$ Hz, 1H), 4,99 (d, $J= 11$ Hz, 1H), 4,03 (t, $J= 9$ Hz, 1H), 3,56-3,46 (m, 2H), 2,56-2,47 (m, 1H) y 2,03-1,92 (m, 1H) ppm.

L) *Trifluoracetato de ($3R,5S'$)-3-amino-1-(benciloxi)-5-isopropil-2-pirrolidinona*

10

M) *Trifluoracetato de ($3R,5S$)-3-amino-1-(benciloxi)-5-isopropil-2-pirrolidinona*

15



20

N) *(2R)-2-[(terc-butoxicarbonil)amino]-4-hidroxibutanoato de metilo*

- 25 Se suspendió D-homoserina (5,0 g, 42 mmol) en una solución de metanol seco (74 ml) y *N*-etildisopropilamina (15 ml, 88 mmol). Se añadió a la mezcla agitada gota a gota una solución de dicarbonato de di-*terc*-butilo (9,2 g, 42 mmol) y dioxano (37 ml) a 22°C. Después de completarse la adición en 20 minutos, se agitó la solución transparente a la misma temperatura durante 3,5 horas y luego se concentró por evaporación rotatoria. El residuo oleoso se disolvió en tolueno (150 ml) y se concentró por evaporación rotatoria. Esta operación se repitió una vez dando el aminoácido N-protectorizado como un aceite viscoso. Este se disolvió en *N,N*-dimetilformamida seca (110 ml) en nitrógeno seco. Se añadieron hidrogenocarbonato potásico finamente molido (5,0 g, 50 mmol) y yodometano (2,9 ml, 47 mmol) y la mezcla se agitó a 22°C durante 70 horas. La suspensión se filtró por succión y el filtrado transparente se concentró por evaporación rotatoria usando un baño de agua caliente (38°C). El aceite restante se suspendió en acetato de etilo (300 ml) y se lavó con una solución de agua (50 ml) y tiosulfato sódico al 10% (5 ml). La fase acuosa se separó y se lavó con acetato de etilo (4 x 200 ml). Las fases orgánicas reunidas se lavaron con salmuera (300 ml), se saturaron 30 con hidrogenocarbonato potásico, se secaron con sulfato sódico anhidro, se filtraron con succión y se concentraron por evaporación rotatoria usando una bomba de alto vacío proporcionando aproximadamente 9,7 g (95% de rendimiento) 35 del compuesto de subtítulo como un aceite amarillo denso. RMN de ^1H (CDCl_3) δ 5,36 (d, 1H), 4,50 (m, 1H), 3,77 (s, 3H), 3,76-3,60 (m, 2H), 2,15 (m, 1H), 1,62 (m, 1H) y 1,45 (s, 9H) ppm.

40

O) *(2R)-2-[(Terc-butoxicarbonil)amino]-4-oxobutanoato de metilo*

- 45 Se enfrió hasta -78°C en un baño de hielo seco/acetona una solución de cloruro de oxalilo (4,0 ml, 46 mmol) y diclorometano seco (150 ml) en nitrógeno seco. Se añadió a esto dimetil sulfóxido (6,5 ml, 92 mmol) gota a gota manteniendo la temperatura interna por debajo de -65°C (¡reacción exotérmica!). Cuando se completó la adición, se añadió una solución de (*2R*)-2-[(terc-butoxicarbonil)-amino]-4-hidroxibutanoato de metilo bruto (42 mmol) y diclorometano seco (300 ml) durante dos horas manteniendo la temperatura interna por debajo de -70°C. Se continuó agitando durante otros 30 minutos a -78°C, luego se añadió trietilamina (29 ml, 208 mmol) rápidamente. Despues de 5 minutos, se retiró el baño de enfriamiento y se calentó la solución hasta 22°C. Despues de un tiempo de reacción total de ocho horas, 50 se diluyó la solución naranja oscuro con diclorometano (200 ml), se lavó con salmuera (350 ml), se secó con sulfato sódico anhidro, se filtró y se concentró por evaporación rotatoria proporcionando 13,5 g de un aceite naranja oscuro. El aceite se suspendió en diclorometano (50 ml), se mezcló con sílice (20 g) y luego se concentró en un baño de agua (35°C) por evaporación rotatoria. El producto así obtenido se aplicó en una columna de sílice (5 cm de diámetro) y la elución con acetato de etilo/n-heptano (1:3 a 1:1) proporcionó 3,7 g (38% de rendimiento total para las tres etapas) 55 del compuesto del título como un aceite incoloro. FT-IR (película) v 1715 cm^{-1} (v str). RMN de ^1H (CDCl_3) δ 9,72 (s, 1H), 5,38 (d, 1H), 4,58 (m, 1H), 3,73 (s, 3H), 3,08 (dd, 1H), 2,99 (dd, 1H) y 1,42 (s, 9H) ppm.

60

P) *(2R)-4-[(Benciloxi)imino]-2-[(terc-butoxicarbonil)amino]butanoato de metilo*

65

Se agitaron en nitrógeno seco a 22°C durante 90 minutos (*2R*)-2-[(terc-butoxicarbonil)amino]-4-oxobutanoato de metilo (3,7 g, 16 mmol), piridina seca (35 ml), *O*-bencilhidroxilamina (2,0 g, 16 mmol) y sulfato sódico anhidro (4 g). La solución se filtró por succión y se concentró dos veces con tolueno (50 ml) por evaporación rotatoria proporcionando un aceite (5,3 g) que se purificó en una columna de sílice eluida con acetato de etilo /n-heptano (1:5 a 1:3). La concentración de las fracciones puras dio 4,1 g (76% de rendimiento) del compuesto del título como un aceite incoloro. RMN de ^1H (CDCl_3) δ 7,39 (t, 0,66 H), 7,36-7,26 (m, 5H), 6,76 (t, 0,33H), 5,19 (m, 1H), 5,10 (s, 0,8H), 5,02 (s, 1,2H), 4,48 (m, 1H), 3,71 (s, 1,2H), 3,66 (s, 1,8H), 2,91-2,71 (m, 1H), 2,67 (m, 1H), 1,43 (s, 5H) y 1,43 (s, 4H) ppm.

ES 2 314 112 T3

Q) (*3R*)-1-(Benciloxi)-5-isopropil-2-oxopirrolidinil-3-carbamato de *terc*-butilo

A una solución de (*2R*)-4-[(benciloxi)imino]-2-[(*terc*-butoxicarbonil)amino]-butanoato de metilo (2,8 g, 8,3 mmol), 2-yodopropano (8,3 ml, 83,5 mmol) y tolueno seco (160 ml) en nitrógeno seco se añadieron trifluoruro eterato de boro (3,2 ml, 25 mmol) y trietilborano 1M en hexano (21 ml, 21 mmol). Se hizo pasar rápidamente aire atmosférico (40 ml) a través de la solución usando una jeringa. Despues de agitar la mezcla durante 20 minutos a 22°C se vertió en una solución saturada de hidrogenocarbonato sódico (250 ml). Se repartieron las dos fases, se lavó una vez más la fase acuosa con tolueno (100 ml) y las fases orgánicas reunidas se lavaron con salmuera, se secaron con sulfato sódico anhidro, se filtraron y se concentraron por evaporación rotatoria dando 2,8 g de un aceite. La cromatografía en columna usando acetato de etilo/ n-heptano (1:8 a 1:2) como eluyente di 0,81 g de material de partida sin reaccionar y 0,67 g (21% de rendimiento) de (*2R*)-4-[(benciloxi)amino]-2-[(*terc*-butoxicarbonil)amino]-5-metilhexanoato de metilo como una mezcla diastereoisomérica. RMN de ¹H (CDCl₃) δ 7,41-7,26 (m, 5H), 5,93 (d ancho, 0,4H), 5,61 (d ancho, 0,6H), 4,86-4,64 (m ancho, 2H), 4,42 (m ancho, 0,5H), 4,25 (m ancho, 0,5H), 3,72 (s, 1,4H), 3,67 (s, 1,6H), 2,90-2,76 (m ancho, 0,6H), 2,76-2,61 (m ancho, 0,4H), 2,18-1,54 (m's, 3H), 1,44 (s, 9H), 0,90 (d, 3H) y 0,86 (d, 3H) ppm. MS (APCI) m/z 381 (M+1).

R) (*3R,5S*)-1-(Benciloxi)-5-isopropil-2-oxopirrolidinil-3-carbamato de *terc*-butilo

S) (*3R,5R*)-1-(Benciloxi)-5-isopropil-2-oxopirrolidinil-3-carbamato *terc*-butilo

Se purificaron 0,33 g de (*2R*)-4-[(benciloxi)amino]-2-[(*terc*-butoxicarbonil)amino]-5-metilhexanoato de metilo por cromatografía preparativa (Kromasil™ (250 mm x 50,8 mm) desde 45 a 65% de acetonitrilo a agua (TFA al 0,1%) durante 60 minutos a un caudal de 40 ml/min]. Se agruparon y concentraron hasta sequedad por evaporación rotatoria en un baño de agua caliente las fracciones diastereoisoméricamente puras observadas en la HPLC analítica. El análisis por RMN de ¹H y LC-MS mostró que los productos aislados correspondían a las pirrolidinonas y no a las hidroxilaminas! El cierre espontáneo del anillo se produjo bien durante la etapa de separación o tras concentrar las fracciones.

Primeras fracciones (tiempo de retención 46-48 min): 0,13 g de aceite incoloro

Corresponde a (*3R,5S*)-1-(benciloxi)-5-isopropil-2-oxopirrolidinil-3-carbamato de *terc*-butilo es decir, el isómero trans.

LC-MS (APCI) m/z 293 (M-55), 249 (M-99). RMN de ¹H (CDCl₃) δ 5-7,35 (m, 5H), 5,07 (d, 1H), 5,01 (c, 2H), 4,15 (m, 1H), 3,40 (d, 1H), 2,35 (m, 1H), 2,09 (m, 1H), 1,80 (m, 1H), 1,45 (s, 9H), 0,90 (d, 3H) y 0,80 (d, 3H) ppm.

RMN de ¹³C (CDCl₃) δ 167,5, 155,6, 134,6, 129,3, 128,8, 128,4, 80,1, 76,5, 61,0, 48,9, 28,9, 28,3, 27,4, 18,3 y 16,1 ppm.

40

Últimas fracciones (tiempo de retención 51-52 min): 0,087 g de aceite incoloro

Corresponde a (*3R,5R*)-1-(benciloxi)-5-isopropil-2-oxopirrolidinil-3-carbamato de *terc*-butilo es decir, el isómero cis.

LC-MS (APCI) m/z 293 (M-55), 249 (M-99). RMN de ¹H (CDCl₃) δ 7,44-7,34 (m, 5H), 5,07 (d, 1H), 4,92 (d, 1H), 4,12 (m, 1H), 3,24 (m, 1H), 2,40 (m, 1H), 2,13 (m, 1H), 1,44 (s, 9H), 0,83 (d, 3H) y 0,81 (d, 3H) ppm. RMN de ¹³C (CDCl₃) δ 167,9, 155,7, 134,5, 129,6, 129,0, 128,5, 80,2, 76,2, 60,3, 49,2, 28,3, 27,5, 27,2, 17,9 y 15,4 ppm.

50

T) Trifluoracetato de (*3R,5S*)-3-amino-1-(benciloxi)-5-isopropil-2-pirrolidinona

Se agitó en nitrógeno a 22°C durante 20 minutos una solución de (*3R,5S*)-1-(benciloxi)-5-isopropil-2-oxopirrolidinil-3-carbamato de *terc*-butilo (0,13 g, 0,37 mmol), ácido trifluoracético (1 ml) y diclorometano (3 ml) y luego se concentró por evaporación rotatoria dando 0,14 g del compuesto del título como un sólido blanco. LC-MS (APCI) m/z 249 (M+1). RMN de ¹H (CDCl₃) δ 7,40-7,30 (m, 5H), 4,97 (d, 1H), 4,91 (d, 1H), 4,12 (m, 1H), 3,62 (m, 1H), 2,20 (m, 1H), 2,10 (m, 1H), 0,81 (d, 3H) y 0,74 (d, 3H) ppm.

60

U) Trifluoracetato de (*3R,5R*)-3-amino-1-(benciloxi)-5-isopropil-2-pirrolidinona

Se agitó en nitrógeno a 22°C durante 30 minutos una solución de (*3R,5R*)-1-(benciloxi)-5-isopropil-2-oxopirrolidinil-3-carbamato de *terc*-butilo (0,035 g, 0,10 mmol), ácido trifluoracético (0,34 ml) y diclorometano (1 ml) y luego se concentró por evaporación rotatoria dando 0,041 g del compuesto del título como un aceite incoloro. LC-MS (APCI) m/z 249 (M+1). RMN de ¹H (CDCl₃) δ 7,33 (s ap, 5H), 4,96 (d, 1H), 4,85 (d, 1H), 4,10 (m, 1H), 3,32 (m, 1H), 2,06 (m, 1H), 1,84 (m, 1H) y 0,78 (d, 6H) ppm.

ES 2 314 112 T3

Cloruros de sulfonilo y sulfamoilo

V) 3-bencilsulfanilmetil-dihidro-furan-2-ona. [91496-15-0]

5 3-Metilen-dihidro-furan-2-ona (4,6 g; 46,9 mmol), bencilmercaptano (4,3 ml); 36,5 mmol se disolvió en MeOH (30 ml) y se añadió Triton B al 30% (=hidróxido de benciltrimetilamonio) (2 ml; aprox. 3,6 mmol). Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante la noche. La evaporación del disolvente y residuo se distribuyó entre HCl al 5% (50 ml) y EtOAc (10 ml). La fase acuosa se extrajo dos veces con EtOAc. Las fases orgánicas reunidas se lavaron con NaHCO₃ saturado (ac), se secó (MgSO₄), se filtró y se evaporó. El aceite resultante se destiló, dando el compuesto del
10 título como un aceite incoloro. Se obtuvieron 3,6 g (44% de rendimiento).

T Eb = 120-122°C a 0,05 torr.

GC-MS: M⁺=222,3, pureza>98%.

15 RMN de ¹H (CDCl₃): δ 7,31-7,16 (m, 5H, Ar-H), 4,23+4,06 (dt+dt, 1H+1H, -CH₂OCO-), 3,69 (s, 2H, ArCH₂S-), 2,86+2,52 (dd+dd, 1H+1H, -SCH₂CH-), 2,66 (ddd, 1H, -CH(CO-)CH₂-), 2,29+1,98 (m+m, 1H+1H, -CH₂CH₂O-)
ppm.

20 RMN de ¹³C (CDCl₃): δ 177,39, -137,62, 128,51, 128,19, 126,80, 66,25, 39,29, 36,57, 31,33, 27,60 ppm.

W) Clorosulfonilmetil-dihidro-furan-2-ona

25 (3R,S)-3-bencilsulfanilmetil-dihidro-furan-2-ona (1,25 g; 5,65 mmol) se disolvió en dioxano (30 ml) + H₂O (20 ml) y se enfrió en un baño de hielo-agua. Mientras se agitaba se hizo burbujejar Cl₂ (g) lentamente a través de la solución hasta que la solución se hizo de color verde-amarillo, se desconectó el gas cloro y la solución se agitó durante 15 minutos en un baño de hielo. El disolvente se eliminó seguidamente por evaporación y el residuo se volvió a disolver y se evaporó en tolueno cuatro veces. No se aisló el cloruro de sulfonilo intermedio obtenido como un
30 aceite.

X) Cloruro de 4-(4-Fluoro-fenil)-piperidin-1-sulfonilo

35 Hidrocloruro de 4-(4-fluoro-fenil)-piperidina (1,0 g; 4,64 mmol) y Et₃N (1,9 ml; 13,9 mmol) se disolvió en DCM (20 ml) y se enfrió hasta 0°C usando un baño de hielo/agua. ClSO₃H (309 ul; 4,6 mmol) se añadió lentamente gota a gota debido a la reacción altamente exotérmica. Después de completarse la adición, se dejó que la mezcla alcanzara temperatura ambiente y se agitó durante la noche. La solución amarillo transparente del derivado de ácido sulfónico intermedio se evaporó y se añadió tolueno seco (20 ml) para formar una suspensión. Se añadió a esta suspensión PCl₅
40 (1,06 g; 5,1 mmol) en porciones, la mezcla se calentó en un baño de aceite hasta 75°C durante 2 h y luego se dejó durante la noche a temperatura ambiente antes de filtrar. La torta del filtro se lavó con tolueno y se evaporó el filtrado. Se añadió EtOAc y las sales precipitadas se separaron por filtración. El producto bruto se purificó en 70 g de gel de sílice Si-60 usando cromatografía ultrarrápida con un gradiente de Heptano al 100% hasta DCM al 100%. El tiempo de gradiente fue de 35 minutos y el caudal de disolvente fue de 20 ml/min. Las fracciones que contenían producto se
45 evaporaron dando el compuesto del título como un aceite ligeramente amarillo que cristalizó en reposo. Se obtuvieron 0,94 (70% de rendimiento) del compuesto del título.

TLC (Si-60, DCM:Heptano (8:2)): R_f=0,76.

50 Pureza por RMN=95%.

RMN de ¹H (CDCl₃): δ 7,19+7,04 (m+m, 2H+2H, Ar-H), 4,03+2,94(m+m, 2H+2H, -N(CH₂-)₂-), 2,69 (m, 1H, ArCH), 2,08-1,86 (m, 4H, -N(CH₂CH₂-)₂-) ppm.

55 RMN de ¹³C (CDCl₃): δ 162,86, 160,43, 139,56, 139,53, 128,08, 128,00, 115,63, 115,42, 48,57, 40,44, 31,76 ppm.

Y) Cloruro de 3-(4-fluoro-fenoxy)-pirrolidin-1-sulfonilo

60 (3R,S)-3-(4-Fluoro-fenoxy)-pirrolidina (Helsley, G. C., 1970, número de patente alemana 1964511; Welstead, W. J., Jr. et al, 1969, J. Med. Chem. 12(3): 435-41), (1,0 g; 5,5 mmol) y Et₃N (1,5 m; 11,0 mmol) se disolvió en DCM (20 ml) y se enfrió hasta 0°C usando un baño de hielo/agua. ClSO₃H (367 ul; 5,5 mmol) se añadió lentamente gota a gota debido a la reacción altamente exotérmica. Después de completarse la adición, se dejó que la mezcla alcanzara temperatura ambiente y se agitó durante la noche. La solución amarillo transparente del derivado de ácido sulfónico intermedio se evaporó y se añadió tolueno seco (20 ml) para formar una suspensión. Se añadió a esta suspensión PCl₅
65 (1,26 g; 6,05 mmol) en porciones, la mezcla se calentó en un baño de aceite hasta 75°C durante 2 h y luego se dejó durante la noche a temperatura ambiente antes de filtrar. La torta del filtro se lavó con tolueno y se evaporó el filtrado. Se añadió EtOAc y las sales precipitadas se separaron por filtración. El producto bruto se purificó en 70 g de gel de

ES 2 314 112 T3

sílice Si-60 usando cromatografía ultrarrápida con un gradiente de Heptano al 100% hasta DCM al 100%. El tiempo de gradiente fue de 35 minutos y el caudal de disolvente fue de 20 ml/min.

Las fracciones que contenían producto se evaporaron dando el compuesto del título como un aceite incoloro que 5 cristalizó en reposo. Se obtuvieron 1,17 g (76% de rendimiento).

TLC (Si-60 DCM:Heptano (8:2)): $R_f=0,74$.

RMN de ^1H (CDCl_3): δ 7,02+6,84 (m+m, 2H+2H, Ar-H), 4,96 (m,1H, ArOCH-), 3,78-3,76 (m, 4H, -NCH₂-), 10 (CH₂-)-, 2,36+2,25 (m+m, 1H+1H, -NCH₂CH₂-) ppm.

RMN de ^{13}C (CDCl_3): δ 159,04, 156,65, 152,23, 152,24, 116,97, 116,89, 116,39, 116,16, 76,05, 55,20, 48,64, 31,18 ppm.

15 Z) Cloruro de 4-(4-trifluorometil-fenil)-piperazin-1-sulfonilo

1-(4-Trifluorometil-fenil)-piperazina (1,0 g; 4,34 mmol) y Et_3N (1,21 ml); 8,68 mmol) se disolvió en DCM (20 ml) y se enfrió hasta 0°C en un baño de hielo/agua. ClSO_3OH (289 ul; 4,34 mmol) se añadió gota a gota, después 20 de la adición se dejó que la mezcla alcanzara temperatura ambiente y se agitó durante la noche. La solución amarillo transparente resultante se evaporó y el residuo se evaporó una vez en tolueno. Se añadió al ácido sulfónico intermedio tolueno (20 ml) para formar una suspensión, se añadió a esta suspensión PCl_5 (1,0 g; 4,8 mmol) en porciones, la mezcla 25 se calentó entonces en un baño de aceite hasta 75°C durante 2 h y luego se dejó agitar durante la noche a temperatura ambiente.

25 La mezcla de reacción se filtró y la torta de filtro se lavó con tolueno y se evaporaron los disolventes orgánicos reunidos. El residuo se disolvió en EtOAc y las sales insolubles se separaron por filtración. Se añadió gel de Si-60 a la solución transparente y luego se evaporó dando el producto bruto absorbido sobre gel de sílice. Se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre 70 g de gel de Si-60 usando un sistema de gradiente de disolvente de heptano al 100% 30 hasta DCM al 100%, tiempo de gradiente 44 minutos, caudal de eluyente: 20 ml/min.

Las fracciones que contenían producto se evaporaron hasta el compuesto del título como un sólido ligeramente amarillo. Se obtuvieron 0,65 g (45% de rendimiento).

35 Pureza por RMN=98%.

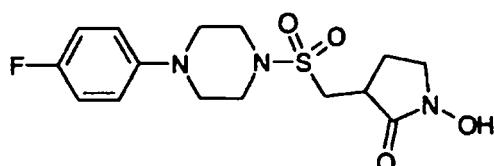
TLC (Si-60, DCM:Heptano (8:2)): $R_f=0,82$.

40 RMN de ^1H (CDCl_3): δ 7,55+6,98 (d+d, 2H+2H, Ar-H), 3,50 (s ancho, 8H, -CH₂- x 4) ppm.

40 RMN de ^{13}C (CDCl_3): δ 152,19, (162,75+126,71+126,67+126,63), (128,42+125,73+123,03+120,34), (122,95+ 122,62+122,30+121,97), 115,78, 47,42, 47,30 ppm.

45 Ejemplo de referencia 1

3-[4-(4-Fluoro-fenil)-piperazin-1-sulfonilmethyl]-1-hidroxi-pirrolidin-2-ona



55

a) 3-[4-(4-Fluoro-fenil)-piperazin-1-sulfonilmethyl]-dihidro-furan-2-ona

Se disolvió clorosulfonilmethyl-dihidro-furan-2-ona en DCM (10 ml) y se añadió a una solución fría (0°C) de 4-fluoro-fenil piperazina (1,15 g; 6,38 mmol) y Et_3N (0,87 ml; 6,2 mmol) en DCM (7 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. Evaporación del disolvente y purificación por cromatografía ultrarrápida sobre gel de Si-60 usando EtOAc:Heptano (1:1) como eluyente. Las fracciones que contenían el producto se evaporaron dando el compuesto del título. Se obtuvieron 0,94 g (48% de rendimiento). Se estimó por RMN que la pureza era del 90%, considerado suficientemente puro para usar en la etapa siguiente.

65 TLC (Si-60, EtOAc:heptano (1:1)): $R_f=0,26$.

LC/MS(APCI): $\text{MH}^+=343,0$.

ES 2 314 112 T3

RMN de ^1H (CDCl_3): δ 6,99+6,90 (m+m, 2H+2H, Ar-H), 4,47+4,28 (m+m, 1H+1H, - $\text{CH}_2\text{OCO}-$), 3,57+2,92 (dd+dd, 1H+1H, - SO_2CH_2-), 3,46+3,19 (m+m, 4H+4H, -N(CH_2-)-x4), 3,14 (m, 1H, - $\text{CH}(\text{CO}-)\text{CH}_2-$), 2,77+2,26 (m+m, 1H+1H, - $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$) ppm.

5 RMN de ^{13}C (CDCl_3): δ 176,42, 159,04, 156,65, 147,31, 147,28, 119,07, 118,99, 115,88, 115,66, 67,09, 50,53, 49,21, 45,73, 35,41, 29,14 ppm.

10 b) *N-terc-Butoxi-2-[4-(4-fluoro-fenil)-piperazin-1-sulfonilmetil]-4-hidroxi-butiramida*

15 Hidrocloruro de O-t-butil-hidroxilamina (283 mg; 2,25 mmol) se suspendió en benceno seco (10 ml). (Se puede usar tolueno en lugar de benceno). Se añadió trimetilaluminio (2,0M/heptano) (1,20 m; 2,4 mmol) a la suspensión en nitrógeno. Se generó metano y se formó una solución casi transparente. (3R,S)-3-[4-(4-Fluoro-fenil)-piperazin-1-sulfonilmetil]-dihidro-furan-2-ona (350 mg; 1,03 mmol) se disolvió en benceno (10 ml) y se añadió al reaccionante 20 aluminato durante 5 minutos. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 60 minutos. La reacción se inactivó con EtOH (5 ml) y se agitó durante la noche, se diluyó con AcOA 1M (acuoso) (10 ml) y se extrajo con 4 porciones de EtOAc. Las fases orgánicas se evaporaron y el producto bruto se purificó sobre sílice usando DCM como primer eluyente seguido por DCM/MeOH (100/4) como segundo eluyente. Las fracciones que contenían el producto se evaporaron dando el compuesto del título.

25 Se obtuvieron 0,39 g (88.5% de rendimiento).

TLC(Si-60, DCM:MeOH (100:3)): $R_f=0,1$.

25 LC/MS(APCI): $\text{MH}^+=431,9$.

30 RMN de ^1H (DMSO-D6): δ 10,48 (s, 1H, -NH-), 7,07+6,98 (m+m, 2H+2H, Ar-H), 4,55 (t a, 1H, -OH), 3,47-3,34 (m, 3H), 3,30-3,23 (m, 4H), 3,17-3,10 (m, 5H), 2,77 (m, 1H), 1,66 (c, 2H), 1,15 (s, 9H) ppm.

35 c) *1-terc-Butoxi-3-[4-(4-fluoro-fenil)-piperazin-1-sulfonilmetil]-pirrolidin-2-ona*

40 (2R,S)-N-terc-Butoxi-2-[4-(4-fluoro-fenil)-piperazin-1-sulfonilmetil]-4-hidroxi-butiramida (100 mg; 0,23 mmol) + PPh_3 (90 mg; 0,34 mmol) se disolvió en DCM (5 ml) y se enfrió en nitrógeno hasta -78°C. Se añadió DEAD y se dejó que la mezcla llegara hasta temperatura ambiente durante 3 horas. La LC/MS mostró que el material de partida todavía estaba presente en la mezcla de reacción y que se había consumido toda la PPh_3 . Se añadió otra porción de PPn_3 (20 mg; 76 μmol) y DEAD (12 μl ; 76 μmol) y se dejó la mezcla de reacción durante la noche a temperatura ambiente. Se evaporó el disolvente y se purificó el residuo en 8 g de gel de Si-60 usando EtOAc:heptano (3:5) como eluyente. Las fracciones que contenían producto se evaporaron dando el compuesto del título como un sólido incoloro. Se obtuvieron 45 g (47% de rendimiento).

45 TLC (Si-60, EtOAc:heptano (1:1)): $R_f=0,25$.

LC/MS(APCI): $\text{MH}^+=414,1$.

50 RMN de ^1H (CDCl_3): δ 6,99+6,89 (m+m, 2H+2H), 3,60-3,48 (m, 3H), 3,48-3,42 (m, 4H), 3,21-3,15 (m, 4H), 2,99-2,83 (m, 2H), 2,52 (m, 1H), 2,08 (m, 1H), 1,32 (s, 9H) ppm.

55 d) *3-[4-(4-Fluoro-fenil)-piperazin-1-sulfonilmetil]-1-hidroxi-pirrolidin-2-ona*

60 Se disolvió (3R,S)-1-terc-butoxi-3-[4-(4-fluoro-fenil)-piperazin-1-sulfonilmetil]-pirrolidin-2-ona (13 mg.; 0,03 mmol) en TFA puro (1 ml) y se calentó en un horno de microondas a 150W durante 9x10 s, dejando que la muestra se enfriara entre cada operación en el microondas (reacción seguida por LC/MS). Tras evaporar el disolvente, el residuo se volvió a disolver en DCM y el producto se retuvo en una columna corta de gel de Si-60. Las impurezas se lavaron usando EtOAc:heptano (3:5), el producto se eluyó con DCM:MeOH: Et_3N (90: 10: 1) y se evaporó el disolvente. Este producto bruto amarillo se disolvió en DCM y se filtró a través de otra columna de Si-60 usando EtOAc como disolvente, después de la evaporación se obtuvo el compuesto del título como un sólido incoloro. Se obtuvieron 5 mg (50% de rendimiento, 90% de pureza por RMN de H).

LC/MS(APCI): $\text{MH}^+=358,0$.

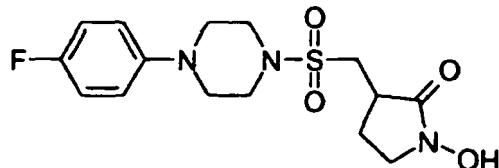
65 RMN de ^1H (DMSO-D6): δ 9,75 (s, 1H, -NOH), 7,07+6,99 (m+m, 2H+2H, Ar-H), 3,44 (m, 2H, - $\text{CH}_2\text{N(OH)}$ -), 3,32 + 3,16(m+m, 4H+4H, -N(CH_2-)-x4), 3,31+3,23 (m+m, 1H+1H, - SO_2CH_2-), 2,82 (m, 1H, - $\text{CH}(\text{CO}-)$), 2,29+1,93 (m+m, 1H+1H, - $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N(OH)}$ -) ppm.

ES 2 314 112 T3

Ejemplo de referencia 2

Trifluoracetato de 3-[4-(4-fluoro-fenil)-piperazin-1-sulfonilmetil]-1-hidroxi-pirrolidin-2-ona

5



10

El compuesto del título se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejemplo 1, partiendo de (3R,S)-1-terc-butoxi-3-[4-(4-fluoro-fenil)-piperazin-1-sulfonilmetil]-pirrolidin-2-ona (45 mg; 0,11 mmol). La purificación se llevó a cabo en una columna C-18, usando como sistema disolvente MeCN/H₂O + TFA al 0,1%, se purificó dos veces dando el compuesto del título como un sólido incoloro. Se obtuvieron 40 g (77% de rendimiento).

LC/MS(APCI):MH⁺ =358,1.

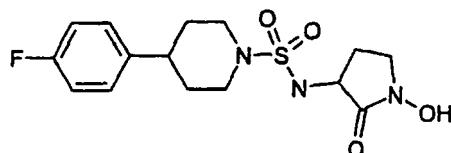
20 RMN de ¹H (DMSO-D6): δ 7,07+6,99 (m+m, 2H+2H, Ar-H), 5,12 (vv s a, 2H, -OH+NH⁺), 3,43 (m, 2H, -CH₂N(OH)-), 3,32 + 3,16(m+m, 4H+4H, -N(CH₂-)- x4), 3,31+3,23 (m+m, 1H+1H, -SO₂CH₂-), 2,81 (m, 1H, -CH(CO-)-), 2,29+1,93 (m+m, 1H+1H, -CH₂CH₂N(OH)-) ppm.

25 RMN de ¹³C (DMSO-D6): δ 167,78, 157,59, 155,24, 147,40, 147,38, 118,04, 117, 96, 115,48, 115,26, 49,38, 49,15, 46,93, 45,06, 34,68, 22,66 ppm.

Ejemplo 3

30 (*1-Hidroxi-2-oxo-pirrolidin-3-il*)-amida del ácido 4-(4-fluoro-fenil)-piperidin-1-sulfónico

35



40 a) (*1-Benciloxi-’-oxo-pirrolidin-3-il*)-amida del ácido 4-(4'-fluoro-fenil)-piperidin-1-sulfónico

Se disolvió hidrocloruro de 3-amino-1-benciloxi-pirrolidin-2-ona (68 mg; 0,28 mmol) y DMAP (20 mg; 0,16 mmol) en DMF seco (1,5 ml). Se disolvió cloruro de 4-(4-fluoro-fenil)-piperidin-1-sulfonilo (155 mg; 0,56 mmol) en DMF (0,25 ml) y se añadió a la mezcla de reacción seguido por Et₃N (156 ul; 1,12 mmol).

45 La mezcla de reacción se calentó usando un horno de microondas a 200 W durante 10 segundos. Se añadió otra porción de cloruro de sulfamoilo (155 mg; 0,56 mmol) en DMF (0,25 ml) y Et₃N (156 ul; 1,12 mmol) y la mezcla se calentó de nuevo a 200 W durante 10 segundos. La mezcla de reacción se evaporó, el residuo se disolvió en DCM y se añadió gel de Si-60 seco antes de evaporar dando el producto bruto absorbido en la sílice. La purificación se realizó en 20 g de gel de Si-60, usando un gradiente de heptano al 100% hasta EtOAc al 100%, tiempo de gradiente =44 min, 20 ml/min. Las fracciones que contenían producto se evaporaron dando el compuesto del título como un sólido incoloro. Se obtuvieron 40 g (32% de rendimiento). La pureza fue solo del 85% pero se consideró suficientemente pura para usar en la etapa siguiente.

55

LC/MS(APCI): MH⁺=44,8,1.

60 RMN de ¹H (CDCl₃): δ 7,42 (m, 5H, Ar-H), 7,17 (m+m, 2H+2H, Ar-H), 5,02 (dd, 2H, ArCH₂ON-), 4,84 (d, 1H, -NH-), 4,00 (m, 1H, -NHCH-), 3,87+2,98 (m+m, 2H+2H, -N(CH₂CH₂-)₂-), 3,25 (m, 2H, -CH₂N(OBzl)-), 2,64 (m, 1H, ArCH(CH₂-)₂-), 2,51+1,91 (m+m, 1H+1H, -CH₂CH₂N(OBzl)-), 1,91+1,77 (m+m, 2H+2H, -N(CH₂CH₂-)₂-) ppm.

65

b) (*1-Hidroxi-2-oxo-pirrolidin-3-il*)-amida del ácido 4-(4-fluoro-fenil)-piperidin-1-sulfónico

Se disolvió ((3R,S)-1-benciloxi-2-oxo-pirrolidin-3-il)-amida del ácido 4-(4-fluoro-fenil)-piperidin-1-sulfónico (40 mg; 0,089 mmol) en MeOH (10 ml). Se añadió una suspensión de Pd al 5%/BaSO₄ (20 mg en 1 ml de MeOH) en una corriente de nitrógeno. La mezcla se agitó a temperatura ambiente y se sometió a hidrogenación con H₂ (g) a 1 atm de presión durante 1 h 45 min. La mezcla se filtró a través de Celite y la torta del filtro se lavó con MeOH y EtOAc. El filtrado ligeramente amarillo se evaporó, se volvió a disolver en EtOAc y se evaporó sobre gel de Si-60.

ES 2 314 112 T3

El producto bruto ligado a la sílice se purificó usando 10 g de gel de Si-60, un gradiente de 100% de heptano hasta 100% de (EtOAc+AcOH al 5%) durante 30 min, y un caudal de 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto se evaporaron dando el compuesto del título como un sólido incoloro.

5 Se obtuvieron 20 g (62% de rendimiento).

LC/MS(APCI): $MH^+=358,1$.

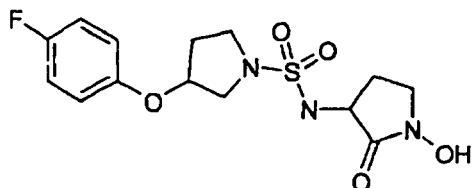
Pureza por RMN >95%.

10 RMN de 1H (DMSO-D6): δ 9,82 (s a, 1H, -OH), 7,72 (s a, 1H, -NH), 7,33-7,26 + 7,15-7,08 (m+m, 2H+2H, Ar-H), 3,93 (t a, 1H, -CH), 3,70 (m a, 1H, -CH' H'' NSO₂⁻), 3,60 (m a, 1H, -CH' H'' NSO₂⁻), 3,38 (dd, 2H, -CH₂N(OH)CO-), 2,85 (m, 2H, -CH' H'' NSO₂⁻), 2,62 (m, 1H, Ar-CH-), 2,35+1,79 (m+m, 1H+1H, -CHCH₂-), 1,81+1,64 (m+m, 2H+2H, Ar-CHCH₂-) ppm

15 RMN de ^{13}C (DMSO-D6): δ 166,13, 161,95, 159,55, 141,71, 141,68, 128,35, 128,54, 115,12, 114,92, 51,80, 46,12, 45,85, 45,44, 40,23, 32,34, 32,23, 25,58 ppm.

20 Ejemplo 4

(1-Hidroxi-2-oxo-pirrolidin-3-il)-amida del ácido 3-(4-fluoro-fenoxy)-pirrolidin-1-sulfónico



a) (1-Benciloxi-2-oxo-pirrolidin-3-il)-amida del ácido 3-(4-fluoro-fenoxy)-pirrolidin-1-sulfónico

35 Se disolvió hidrocloruro de (3R,S)-3-amino-1-benciloxi-pirrolidin-2-ona (68 mg; 0,28 mmol) y DMAP (17 mg; 0,14 mmol) en DMF seco (1,5 ml). Se disolvió cloruro de (3R,S)-3-(4-fluoro-fenoxy)-pirrolidin-1-sulfonilo (134 mg; 0,48 mmol) en DMF (0,25 ml) y se añadió a la mezcla de reacción seguido por Et₃N (145 ul; 1,04 mmol).

40 La mezcla de reacción se calentó usando un horno de microondas a 200 W durante 10 segundos. Se añadió otra porción de cloruro de sulfamoilo (134 mg; 0,48 mmol) en DMF (0,25 ml) y Et₃N (145 ul; 1,04 mmol) y la mezcla se calentó de nuevo a 200 W durante 10 segundos. La mezcla de reacción se evaporó, el residuo se disolvió en DCM y se añadió gel de Si-60 seco antes de evaporar dando el producto bruto absorbido en la sílice. La purificación se realizó en 20 g de Si-60, usando un gradiente de heptano al 100% hasta EtOAc al 100%, tiempo de gradiente =44 min, 20 ml/min. Las fracciones que contenían producto se evaporaron dando el compuesto del título como un sólido incoloro.

45 45 Se obtuvieron 60 mg (47% de rendimiento). La pureza fue solo del 85% pero se consideró suficientemente pura para usar en la etapa siguiente.

LC/MS(APCI): $MH^+=450,1$.

50 Pureza por HPLC (220 nm)=85%.

RMN de 1H (CDCl₃): δ 7,40 (m, 5H, Ar-H), 6,98+6,81 (m+m, 2H+2H, Ar-H), 5,00 (dd, 2H, ArOCH₂N-), 4,89 (m a, ArOCH(CH₂-)CH₂-), 4,31 (m, 1H, -COCH(CH₂-)NH-), 3,67 (m, 1H, -N(CH' H'')-CH₂CH₂-), 3,56 (m, 4H, -N(CH' H'')-CH₂CH₂-), +NH, 3,22 (m, 2H, -CH₂N(OBzl)-), 2,46+1,90 (m+m, 1H+1H, -CH₂CH₂N(OBzl)-), 2,23 (m, 2H, -N(CH' H'')-CH₂CH₂-) ppm.

b) (1-Hidroxi-2-oxo-pirrolidin-3-il)-amida del ácido 3-(4-fluoro-fenoxy)-pirrolidin-1-sulfónico

60 60 Se disolvió ((3R,S)-1-benciloxi-2-oxo-pirrolidin-3-il)-amida del ácido (3R,S)-3-(4-fluoro-fenoxy)-pirrolidin-1-sulfónico (60 mg; 0,13 mmol) en MeOH (10 ml). Se añadió una suspensión de Pd al 5%/BaSO₄ (30 mg en 1 ml de MeOH) en una corriente de nitrógeno. La mezcla se agitó a temperatura ambiente y se sometió a hidrogenación con H₂ (g) a 1 atm de presión durante 1 h 30 min. La mezcla se filtró a través de Celite y la torta del filtro se lavó con MeOH y EtOAc. El filtrado ligeramente amarillo se evaporó, se volvió a disolver en EtOAc y se evaporó sobre gel de Si-60. El producto bruto ligado a la sílice se purificó usando 10 g de gel de Si-60, un gradiente de 100% de heptano hasta 100% de (EtOAc+AcOH al 5%) durante 30 min, y un caudal de 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto se evaporaron dando el compuesto del título como un sólido incoloro. Se obtuvieron 37 g (79% de rendimiento). Apréciese que el producto es una mezcla de diastereoisómeros.

ES 2 314 112 T3

LC/MS(APCI): $MH^+ = 360,1$.

5 RMN de 1H (CD_3CN): δ 7,05+6,92 (m+m, 2H+2H, Ar-H), 5,73 (v s a, 1H, -NH-), 4,97 (m, 1H, Ar-O-CH-), 4,06 (m, 1H, -NHCH-), 3,64+3,42 (m+m, 1H+1H, -CHCH₂N-), 3,46 (m, 2H, -CH₂N(OH)CO-), 3,44 (m, 2H, -CH₂NSO₂-), 2,47+1,91 (m+m, 1H+1H, -NHCHCH₂-), 229+2,12 (m+m, 1H+1H, Ar-O-CHCH₂CH₂-), 3,0-2,0 (v s a, 1H, -OH) ppm.

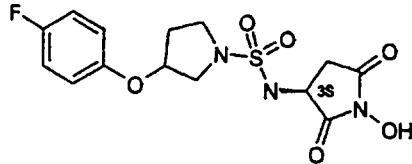
10 RMN de ^{13}C (CD_3CN): δ (167,58+167,52), 159,56, 257,20, 154,45, 154,43, 154,41, 154,39, 129,93, 129,23, 126,26, 118,11, 118,03, 117,95, 117,00, 116,98, 116,77, 116,75, (78,04+78,02), (54,28+54,02), (53,25+53,18), (47,35+47,06), 46,55, 32,19, 26,72 ppm.

10

Ejemplo 5A

((3S)-1-Hidroxi-2,5-dioxo-pirrolidin-3-il)amida del ácido 3-(4-fluoro-fenoxy)-pirrolidin-1-sulfónico

15



20

a) *((3S)-1-Benciloxi-2,5-dioxo-pirrolidin-3-il)-amida del ácido 3-(4-fluoro-fenoxy)-pirrolidin-1-sulfónico*

25 Se disolvió hidrocloruro de (3S)-3-amino-1-benciloxi-pirrolidin-2,5-diona (192 mg; 0,75 mmol) y DMAP (40 mg; 0,33 mmol), Et₃N (285 ul; 2,04 mmol) y cloruro de (3R,S)-3-(4-fluoro-fenoxy)-pirrolidin-1-sulfonilo (190 mg; 0,68 mmol) en DMF seco (2 ml). La mezcla se calentó en un horno de microondas a 200 W durante 2 x 10 segundos, dejando que la mezcla se enfriara entre operaciones. La mezcla de reacción roja se evaporó y el residuo se repartió entre EtOAc y H₂O, se separó la fase orgánica y se lavó con 3 porciones de H₂O, luego se extrajo la fase acuosa una vez con EtOAc. Las fases orgánicas reunidas se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se evaporaron. El producto bruto se purificó en gel de Si-60 usando EtOAc:isohexano (1:2) como primer eluyente y luego EtOAc:isohexano (1:1). Las fracciones que contenían el producto se evaporaron dando el compuesto del título, se obtuvieron 126 mg (40% de rendimiento). Pureza >95%.

35

LC/MS(APCI): $MH^+ = 464,1$.

RMN de 1H (CD_3CN): δ 7,50+7,42 (m+m, 2H+3H, Ar-H), 7,05+6,91 (m+m, 2H+2H, Ar-H), 5,84 (s a, 1H, -NH-), 5,04 (s, 2H, Ar-CH₂O-), 4,96 (m, 1H, ArOCH-), 4,40 (ddd, 1H, -NHCH-), 3,61+3,46 (m+m, 1H+3H, -N(CH₂)₂-), 3,10+2,66 (ddd+ddd, 1H+1H, -CH₂CON-), 2,25 (m, 2H, -NCH₂CH₂-) ppm.

40

RMN de ^{13}C (CD_3CN): δ (169,12+169,05), (167,85+167,83), (157,61+155,25), (152,32+152,30+152,28), 132,93, 128,80, 128,32, 127,63, (116,30+116,14+116,09+116,06), (115,08+115,07+114,85+114,84), 77,71, (75,97+75,94), (52,42+52,21), (48,45+48,41), (45,49+45,25), (33,61+33,59), (30,27+30,24) ppm.

45

apréciase que es una mezcla de diastereoisómeros, por ello los dobles en el experimento de RMN de ^{13}C .

45

b) *((3S)-1-Hidroxi-2,5-dioxo-pirrolidin-3-il)-amida del ácido 3-(4-fluoro-fenoxy)-pirrolidin-1-sulfónico*

50 Se disolvió ((3S)-1-benciloxi-2,5-dioxo-pirrolidin-3-il)-amida del ácido (3R,S)-3-(4-fluoro-fenoxy)-pirrolidin-1-sulfónico (106 mg; 0,23 mmol) en una mezcla caliente de MeOH (5 ml) y EtOAc (10 ml) y se dejó enfriar. Se añadió una suspensión de Pd al 10%/C (30 mg) en MeOH (1 ml) en una corriente de nitrógeno. La mezcla se sometió a hidrogenación usando H₂ a 1 atm. de presión a temperatura ambiente durante 1 hora. La mezcla se filtró a través de Celite y la torta del filtro se lavó con EtOAc, MeOH y DCM. El filtrado se evaporó, se disolvió en EtOAc y se filtró de nuevo a través de Celite usando EtOAc como disolvente de lavado. Este producto bruto era puro por RMN pero de color rojo, lo más probable por residuos de Pd. Para eliminar las impurezas coloreadas se purificó de nuevo el producto por filtración a través de un gel de sílice usando EtOAc+AcOH al 1% como eluyente, luego por cromatografía ultrarrápida usando 10 g de gel de Si-60 y un gradiente de heptano al 100% hasta EtOAC al 100%, tiempo de gradiente 44 minutos, seguido por EtOAc al 100% +AcOH al 1% durante 20 min, caudal=10 ml/min. La evaporación del disolvente y finalmente la adición de DCM da un gel incoloro, la evaporación cuidadosa del disolvente y finalmente secado a vacío da el compuesto del título como un sólido incoloro. Se obtuvieron 64 mg (74% de rendimiento). Pureza 95% por análisis de RMN y LC/MS.

55

LC/MS(APCI): $MH^+ = 374,1$.

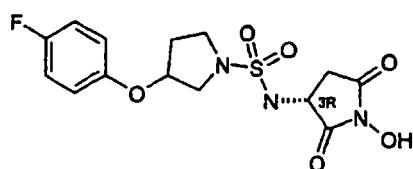
60 RMN de 1H (CD_3CN): δ 8,17 (v s a, 1H, -OH), 7,06+6,93 (m+m, 2H+2H, Ar-H), 5,82 (d a, 1H, -NH-), 4,98 (m, 1H, ArOCH-), 4,40 (m, 1H, -NHCH-), 3,61+3,45 (m+m, 1H+3H, -N(CH₂)₂-), 3,08+2,63 (ddd+ddd, 1H+1H, -COCH₂-), 2,26+2,14 (m+m, 1H+1H, -N(CH₂CH₂)-) ppm.

Ejemplo 5B

((3R)-1-Hidroxi-2,5-dioxo-pirrolidin-3-il)-amida del ácido 3-(4-fluoro-fenoxy)-pirrolidin-1-sulfónico

5

10



15 a) *((3R)-1-Benciloxi-2,5-dioxo-pirrolidin-3-il)-amida del ácido 3-(4-fluoro-fenoxy)-pirrolidin-1-sulfónico*

Se disolvió hidrocloruro de (3R)-3-amino-1-benciloxi-pirrolidin-2,5-diona (102 mg; 0,40 mmol), DMAP (25 mg; 0,20 mmol), Et₃N (180 ul; 1,3 mmol) y cloruro de (3R,S)-3-(4-fluoro-fenoxy)-pirrolidin-1-sulfonilo (140 mg; 0,50 mmol) en DMF seco (1 ml). La mezcla se calentó en un horno de microondas a 200 W durante 10 segundos. Se añadió otra porción de cloruro de sulfamoilo (140 mg; 0,50 mmol) y Et₃N (180 ul; 1,3 mmol) en DMF (1 ml) y la mezcla se calentó de nuevo en un horno de microondas a 200 W durante 10 segundos. Esta solución se evaporó junto con gel de sílice y se purificó en una columna de gel de Si-60 usando un gradiente de heptano al 100% hasta EtOAc al 100%, tiempo de gradiente 44 minutos, 20 ml/min. Las fracciones que contenían producto se purificaron otra vez usando un sistema HPLC semipreparativo en una columna C-18 con un sistema dissolvente H₂O/MeCN + TFA al 0,1%. Las fracciones que contenían producto se evaporaron para eliminar el MeCN, se extrajo el producto precipitado resultante de la fase acuosa con EtOAc. La fase orgánica se secó (Na₂SO₄), se filtró y se evaporó dando el compuesto del título como un sólido incoloro. Se obtuvieron 98 g (52% de rendimiento).

LC/MS(APCI): = 464,1.

30

RMN de ¹H (CD₃CN): δ 7,49+7,41 (m+m, 2H+3H, Ar-H), 7,05+6,92 (m+m, 2H+2H, Ar-H), 5,82 (d a, 1H, -NH-), 5,03 (s, 2H, Ar-CH₂O-), 4,96 (m, 1H, ArOCH-), 4,39 (m, 1H, -NHCH-), 3,59+3,44 (m+m, 1H+3H, -N(CH₂-)₂-), 3,08+2,64 (ddd+ddd, 1H+1H, -CH₂CON-), 2,24+2,13 (m+m, 1H+1H, -NCH₂CH₂-) ppm.

35

b) *((3R)-1-Hidroxi-2,5-dioxo-pirrolidin-3-il)-amida del ácido 3-(4-fluoro-fenoxy)-pirrolidin-1-sulfónico*

Se preparó de una forma similar a la descrita para ((3S)-1-hidroxi-2,5-dioxo-pirrolidin-3-il)-amida del ácido (3R,S)-3-(4-fluoro-fenoxy)-pirrolidin-1-sulfónico usando ácido (3R,S)-3-(4-fluoro-fenoxy)-pirrolidin-1-sulfónico y ((3R)-1-benciloxi-2,5-dioxo-pirrolidin-3-il)-amida (70 mg; 0,15 mmol) como materiales de partida.

Se obtuvieron 40 mg (71% de rendimiento) del compuesto del título como un sólido incoloro.

Pureza 95% por análisis de RMN y LC/MS.

45

LC/MS(APCI): MH⁺=374,1.

50

RMN de ¹H (CD₃CN): δ 7,06+6,93 (m+m, 2H+2H, Ar-H), 5,82 (s a, 1H, -NH-), 4,98 (m a, 1H, ArOCH-), 4,40 (m a, 1H, -NHCH-), 3,61+3,45 (m+m, 1H+3H, -N(CH₂-)₂-), 3,08+2,63 (ddd+ddd, 1H+1H, -COCH₂-), 2,26+2,14 (m+m, 1H+1H, -N(CH₂CH₂-)-), 2,3 (vv s a, -OH) ppm.

RMN de ¹³C (CD₃CN): δ (171,22+171,19), (170,18+170,17), (159,58+157,25), (154,35+154,33+154,31), (118,14+118,08+118,06+118,00), (117,01+116,99+116,77+116,76), 78,00, (54,34+54,15), (50,41+50,36), (47,39+47,18), (35,43+35,42), (32,17+32,14) ppm.

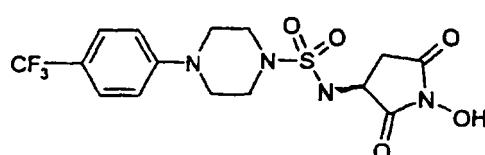
55

Ejemplo 6A

((3S)-1-Hidroxi-2,5-dioxo-pirrolidin-3-il)-amida del ácido 4-(4-trifluorometil-fenil)-piperazin-1-sulfónico

60

65



ES 2 314 112 T3

a) ((3S)-1-Benciloxi-2,5-dioxo-pirrolidin-3-il)-amida del ácido 4-(4-trifluorometil-fenil)-piperazin-1-sulfónico

Se disolvió cloruro de 4-(4-trifluorometil-fenil)-piperazin-1-sulfonilo (256 mg; 0,78 mmol), hidrocloruro del ácido (3S)-3-amino-1-benciloxi-pirrolidin-2,5-diona (112 mg; 0,44 mmol), Et₃N (230 ul; 1,65 mmol) y DMAP (43 mg; 0,35 mmol) en DMF (2 ml).

La mezcla se calentó en un horno de microondas a 200 W durante 2x10 segundos, se dejó enfriar hasta temperatura ambiente y luego se calentó durante otros 10 segundos a 200 W. El disolvente se evaporó y el residuo se repartió entre EtOAc y KHSO₄ al 5%, separación. La fase orgánica se lavó con H₂O y salmuera, se extrajeron las fases acuosas reunidas dos veces con DCM caliente. Las fases orgánicas se reunieron y se evaporaron directamente sobre gel de Si-60. Se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre 20 g de gel de Si-60 usando un sistema de disolvente con gradiente de iso-hexano al 100% hasta EtOAc al 100%. Las fracciones que contenían producto se evaporaron dando el compuesto del título como un sólido ligeramente amarillo. Se obtuvieron 78 mg (35% de rendimiento). La pureza por RMN de H fue 90%, considerado suficientemente puro para usar en la etapa siguiente.

LC/MS(APCI): MH⁺=513,1.

RMN de ¹H (CD₃CN): δ 7,55+7,06 (d+d, 2H+2H, Ar-H), 7,49+7,42 (m+m, 2H+3H, Ar-H), 5,84 (s a, 1H, -NH-), 5,05 (s, 2H, ArCH₂O-), 4,40 (m, 1H, -NHCH-), 3,38+3,34 (m+m, 4H+4H, -N(CH₂CH₂-)₂-), 3,12+2,67 (dd+dd, 1H+1H, -COCH₂-) ppm.

RMN de ¹³C (CD₃CN): δ 170,97, 169,62, 154,20, 134,89, 130,69, 130,21, 129,52, (127,34+127,30+127,27+127,23), (124,62 *), (128,98+120,66 *) 116,02, 79,61, 50,38, 48,21, 46,50, 35,54 ppm.

*) No se pueden observar todas las señales con acoplamiento C-F en el sistema Ar y CF₃.

b) ((3S)-1-Hidroxi-2,5-dioxo-pirrolidin-3-il)-amida del ácido 4-(4-trifluorometil-fenil)-piperazin-1-sulfónico

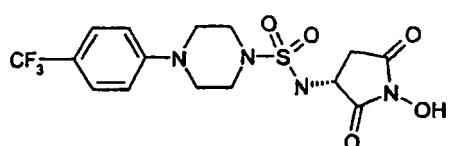
Se disolvió ((3S)-1-benciloxi-2,5-dioxo-pirrolidin-3-il)-amida del ácido 4-(4-trifluorometil-fenil)-piperazin-1-sulfónico (67 mg; 0,13 mmol) en EtOAc (4 ml) + MeOH (4 ml). Se añadió una suspensión de Pd al 10%/C (30 mg) en MeOH (1 ml) en una corriente de nitrógeno. La mezcla se sometió a hidrogenación usando H₂ a 1 atm. de presión a temperatura ambiente durante 1 hora. La mezcla de reacción se filtró a través de Celite y la torta del filtro se lavó con EtOAc, y MeOH. El filtrado se evaporó y el producto bruto se purificó dos veces por cromatografía ultrarrápida sobre gel de Si-60 usando EtOAc:heptano (1:1) como eluyente 1 para eliminar las impurezas, y EtOAc para eluir el producto. Las fracciones que contenían producto se evaporan y se trituró el residuo con Et₂O, se secó el sólido incoloro resultante dando el compuesto del título. Se obtuvieron 20 (36% de rendimiento) del compuesto del título.

LC/MS(APCI): MH⁺=423,1.

RMN de ¹H (DMSO-D₆): δ 10,93 (v s a, 1H, -NOH), 7,97 (s a, 1H, -NH-), 7,53+7,11 (d+d, 2H+2H, Ar-H), 4,46 (m a, 1H, -COCH-), 3,38+3,23 (m+m, 4H+4H, -N(CH₂-)₂- x4), 3,06+2,53 (dd+dd, 1H+1H, -COCH₂-) ppm.

45 Ejemplo 6B

((3R)-1-Hidroxi-2,5-dioxo-pirrolidin-3-il)-amida del ácido 4-(4-trifluorometil-fenil)-piperazin-1-sulfónico



55 a) ((3R)-1-Benciloxi-2,5-dioxo-pirrolidin-3-il)-amida del ácido 4-(4-trifluorometil-fenil)-piperazin-1-sulfónico

Se disolvió cloruro de 4-(4-trifluorometil-fenil)-piperazin-1-sulfonilo (164 mg; 0,50 mmol), hidrocloruro del ácido (3R)-3-amino-1-benciloxi-pirrolidin-2,5-diona (102 mg; 0,40 mmol), Et₃N (180 ul; 1,30 mmol) y DMAP (25 mg; 0,20 mmol) en DMF (1 ml).

La mezcla se calentó en un horno de microondas a 200 W durante 10 segundos y se dejó enfriar hasta temperatura ambiente. Se añadió otra porción de cloruro de sulfamoilo (164 mg; 0,50 mmol) y Et₃N (180 ul; 1,30 mmol) en DMF (1 ml) seguido por calentamiento durante 10 segundos a 200 W. La mezcla de reacción se evaporó y se filtró a través de gel de Si-60 con EtOAC:heptano como eluyente. Este producto se purificó en una columna C-18 con un sistema HPLC usando un gradiente: 70% (H₂O+TFA al 0,1%):30% (MeCN+TFA al 0,1% hasta 100% (MeCN+TFA al 0,1%), tiempo de gradiente=35 min, caudal=10 ml/min, UV=220 nm.

ES 2 314 112 T3

Las fracciones que contenían producto se evaporaron hasta un volumen pequeño, se neutralizó la fase acuosa con NaHCO₃ al 5% y el producto se extrajo con EtOAc. La fase orgánica se secó (Na₂SO₄), se filtró y se evaporó dando el compuesto del título como un sólido incoloro. Se obtuvieron 94 g (45% de rendimiento).

5 Pureza por RMN >98%.

LC/MS(APCI):MH⁺=513,1.

10 RMN de ¹H (CD₃CN): δ 7,55+7,06 (d+d, 2H+2H, Ar-H), 7,49+7,42 (m+m, 2H+3H, Ar-H), 5,90 (s a, 1H, -NH-), 5,05 (s a, 2H, ArCH₂O-), 4,41 (m, 1H, -NHCH-), 3,38+3,33 (m+m, 4H+4H, -N(CH₂CH₂-)₂-), 3,12+2,67 (dd+dd, 1H+1H, -COCH₂-) ppm.

15 b) ((3R)-1-hidroxi-2,5-dioxo-pirrolidin-3-il)-amida del ácido 4-(4-trifluorometil-fenil)-piperazin-1-sulfónico

20 Se disolvió ((3R)-1-benciloxi-2,5-dioxo-pirrolidin-3-il)-amida del ácido 4-(4-trifluorometil-fenil)-piperazin-1-sulfónico (76 mg; 0,15 mmol) en EtOAc (5 ml) + MeOH (5 ml). Se añadió una suspensión de Pd al 10%/C (35 mg) en MeOH (1 ml) en una corriente de nitrógeno. La mezcla se sometió a hidrogenación a temperatura ambiente a 1 atm. de presión de H₂ durante 1 h. La mezcla de reacción se filtró a través de Celite y la torta del filtro se lavó con EtOAc y MeOH. La evaporación del disolvente, el producto bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida a través de 10 g de gel de Si-60 usando un gradiente de heptano al 100% hasta 100% de (EtOAc+AcOH al 1%), tiempo de gradiente =30 min, luego sistema isocrático 100% de (EtOAc+AcOH al 1%) durante 15 min., caudal = 20 ml/min. Las fracciones que contenían producto se evaporaron y el residuo se trituró con Et₂O y el sólido incoloro resultante se secó dando el compuesto del título. Se obtuvieron 47 (74% de rendimiento) del compuesto del título.

25 LC/MS(APCI): MH⁺=423,1.

30 RMN de ¹H (CD₃CN): δ 7,55+7,06 (d+d, 2H+2H, ³J=8,8Hz, Ar-H), 5,91 (vs, 1H, -NH-), 4,41 (m a, 1H, -COCH₂-), 3,39+3,33 (m+m, 4H+4H, -N(CH₂-)- x 4), 3,10 (dd, 1H, ²J=17,6Hz, ³J=9,1Hz, -COCH' H"-), 2,65 (dd, 1H, ²J=17,7Hz, ³J=5,2Hz, -COCH' H"-), 2,25 (vv s a, 1H, -NOH) ppm.

RMN de ¹³C (CD₃CN): δ 171,00, 169,91, 154,16, 127,27,127,24, 127,20, 127,16, 124,58, 121,17, 120,84, 120,53, 120,20, 115,94, 110,76, 50,30, 48,12, 46,44, 35,31 ppm.

35 Ejemplo 7

N-[{(3S)-1-hidroxi-2,5-dioxopirrolidinil}[1,1'-bifenil]-4-sulfonamida



a) N-[1-(benciloxi)-2,5-dioxo-3-(R)-pirrolidinil]-(1,1'-bifenil)-4-sulfonamida. Se disolvió hidrocloruro

50 de R-3-amino-1-(benciloxi)-2,5-pirrolidindiona (0,4 mmol) en diclorometano (2 ml) y se añadieron 0,2 ml (1,2 mmol) de trietilamina, seguido por cloruro de 4-fenilbencenosulfonilo (0,2 mol). La mezcla se agitó durante la noche a TA, se evaporó y se trituró con acetato de etilo (5 ml). El precipitado se filtró y se lavó con una pequeña cantidad de acetato de etilo, el filtrado se sometió a cromatografía ultrarrápida a través de 25 g de SiO₂ (eluido con acetato de etilo) y se evaporó.

55 Se usó en el procedimiento general anterior.

MS:m/z = 437,1.

60 RMN de ¹H: (cloroformo/metanol): 2,65m (2H), 4,25m (0,94H), 4,85s (1,95H), 7,4m (6H), 7,65m (2H), 7,70d (2H), 7,85d (2H), 7,90d (2H)

65 b) N-[{(3S)-1-hidroxi-2,5-dioxopirrolidinil}[1,1'-bifenil]-4-sulfonamida

Se sometió a hidrogenación *N*-[1-(benciloxi)-2,5-dioxo-3-(R)-pirrolidinil] [1,1'-bifenil]-4-sulfonamida sobre Pd al 10% sobre carbón en etanol+AcOH al 10% a presión atmosférica normal en el aparato de hidrogenación convencional

ES 2 314 112 T3

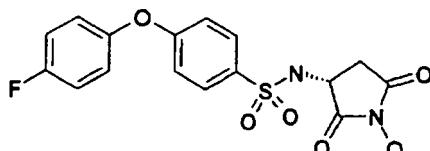
y se controló el progreso de la reacción por TLC. Seguidamente, se filtró el catalizador, se lavó con etanol y se purificó el compuesto del título por cromatografía sobre gel de sílice (EtOAc+MeOH al 10% +AcOH al 1%).

MS:m/z = 346,1.

RMN de ^1H : (MeOH): 3,60m (1,5H), 3,95m (0,6H), 4,15m (1H), 7,3m (4,5H), 7,65d (2,1H), 8,15 d (2H).

Ejemplo 8

4-(4-fluorofenoxi)-N-[$(3S)$ -1-hidroxi-2,5-dioxopirrolidinil]bencenosulfonamida



a) *N-[1-(benciloxi)-2,5-dioxo-3-(R)-pirrolidinil]-4-(4-fluorofenoxi)-bencenosulfonamida*

Se disolvió hidrocloruro de R-3-amino-1-(benciloxi)-2,5-pirrolidindiona del ejemplo 7b, (0,4 mmol) en diclorometano (2 ml) y se añadieron 0,2 ml (1,2 mmol) de trietilamina seguido por cloruro de 4-(4'-fluorofenoxi)-bencenosulfonilo (0,2 mol). La mezcla se agitó durante la noche a TA, se evaporó y se trituró con acetato de etilo (5 ml). El precipitado se filtro y se lavó con una pequeña cantidad de acetato de etilo, se sometió el filtrado a cromatografía ultrarrápida a través de 25 g de SiO_2 (eluido con acetato de etilo y se evaporó).

MS: MS:m/z = 528,1.

RMN de ^1H (cloroformo-metanol): 2,55 m (2H), 3,95 m (1H), 5,0s (2H), 7,25m (5H), 7,55d (2H), 7,65d (2H), 7,90d (2H), 8,15d (2H).

b) *4-(4-fluorofenoxi)-N-[$(3S)$ -1-hidroxi-2,5-dioxopirrolidinil]bencenosulfonamida*

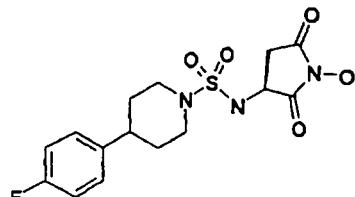
Se sometió a hidrogenación *N*-[1-(benciloxi)-2,5-dioxo-3-(R)-pirrolidinil]-4-(4'-fluorofenoxi)bencenosulfonamida sobre Pd al 10% sobre carbón en etanol + AcOH al 10% a presión atmosférica normal en el aparato de hidrogenación convencional y se controló el progreso de la reacción por TLC. Seguidamente, se filtró el catalizador, se lavó con etanol y se purificó el compuesto del título por cromatografía sobre gel de sílice (EtOAc+MeOH al 10% +AcOH al 1%).

MS:m/z = 380,1.

RMN de ^1H (MeOH): 2,6m (0,95H), 3,0m (0,99H), 4,5m (1H), 6,95m (6,45H), 7,30d (2,04H).

Ejemplo 9

4-(4-fluorofenil)-N-[$(3S)$ -1-hidroxi-2,5-dioxopirrolidinil]-1-piperidinsulfonamida



a) *N-[1-(benciloxi)-2,5-dioxo-3-pirrolidinil]-4-(4-fluorofenil)-1-piperidinsulfonamida*

Se disolvió hidrocloruro de R-3-amino-1-(benciloxi)-2,5-pirrolidindiona (0,59 mmol) en 2 ml de DMF y se añadió diisopropil etil amina (0,3 ml, 0,3 mmol) seguido por 100 mg de cloruro de 4-(4-fluorofenil)-piperidinsulfonilo (preparado en el Ejemplo 3) y la mezcla se agitó y se calentó a 60°C durante 48 horas en atmósfera inerte. A continuación

ES 2 314 112 T3

se evaporó, se trituró con acetato de etilo, se filtró, se lavó el precipitado con una pequeña cantidad de acetato de etilo, se sometió el filtrado a cromatografía sobre 50 g de SiO₂, eluyó con diclorometano y luego diclorometano+MeOH al 15%. La fracción apropiada se recristalizó en TBME-MeOH proporcionando 20 mg del compuesto del título.

5 MS:m/z = 463,1.

10 RMN de ¹H:(cloroformo-metanol): 2,05m (3,1H), 2,65m (0,8H), 3,85m (5,1H), 4,5m (1,5H), 5,15s (2,1H), 6,55d (2,1H), 7,15dd (1,8), 7,85 m (5H).

15 10 b) *4-(4-fluorofenil)-N-[(3S)-1-hidroxi-2,5-dioxopirrolidinil]-1-piperidinsulfonamida*

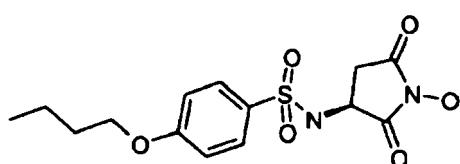
15 Se sometió a hidrogenación *N*-[1-(bencíloxi)-2,5-dioxo-3-pirrolidinil]-4-(4-fluorofenil)-1-piperidinsulfonamida sobre Pd al 10% en carbón en etanol + AcOH al 10% a presión atmosférica normal en el aparato de hidrogenación convencional y se controló el progreso de la reacción por TLC. Seguidamente, se filtró el catalizador, se lavó con etanol y se purificó el compuesto del título por cromatografía sobre gel de sílice (EtOAc+MeOH al 10% +AcOH al 1%). MS: MS:m/z = 372,1.

20 RMN de ¹H: (MeOH/DMSO): 1,80m.

20 (3,55H), 2,6m(1,75H), 12,95m(1,85H), 3,10c(0,95H), 3,30m(dd, 1H), 3,35d(1,05H), 4,5m (1H), 7,0 dd(1,9H), 7,25dd(1,95H).

25 Ejemplo de referencia 10

4-Butoxi-N-(1-hidroxi-2,5-dioxo-pirrolidin-3(S)-il)-bencenosulfonamida



a) *N-(1-bencíloxi-2,5-dioxo-pirrolidin-3(S)-il)-4-butoxi-bencenosulfonamida*

40 Se agitaron en piridina (1 ml) a temperatura ambiente durante 0,5 horas cloruro de 4-(N-butoxi)bencenosulfonilo (107 mg, 0,43 mmol) e hidrocloruro de S-3-amino-1-(bencíloxi)-2,5-pirrolidindiona (100 mg, 0,43 mmol). El disolvente se eliminó a vacío y precipitaron 109 mg (65%) del compuesto del subtítulo cuando se añadió metanol frío (2 ml).

45 RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7,81 a 7,77 (2 H); 7,45 a 7,34 (3 H); 7,01 a 6,97 (2 H); 5,27 (1 H, d a, NH); 5,08 (2 H, s, CH₂Ph); 4,06 a 4,01 (3 H); 3,02 (1H, dd); 2,73 (1H, dd); 1,84 a 1,77 (2 H, m, CH₂); 1,56 a 1,47 (2 H, m, CH₂); 1,00 (3 H, t, CH₃).

50 APCI-MS m/z: 433 [MH⁺].

b) *4-Butoxi-N-(1-hidroxi-2,5-dioxo-pirrolidin-3(S)-il)-bencenosulfonamida*

55 Se sometió a hidrogenación *N*-(1-bencíloxi-2,5-dioxo-pirrolidin-3(S)-il)-4-butoxi-bencenosulfonamida (100 mg, 0,23 mmol) a presión atmosférica durante 1 hora en acetato de etilo/metanol (1:1,4 ml) con paladio sobre carbón activado (50 mg, 10%). La mezcla se filtró a través de Celite® y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (acetato de etilo-ácido acético, 100:2) dando 59 mg (75%) del compuesto del título.

60 RMN de ¹H (400 MHz, CD₃CN) δ 7,81 a 7,77 (2H); 7,08 a 7,04 (2 H); 6,01 (1 H, d a, NH); 4,33 a 4,26 (1H, m); 4,11 a 4,04 (2 H); 2,85 (1H, dd); 2,39 (1H, dd); 1,82 a 1,74 (2 H, m, CH₂); 1,55 a 1,45 (2 H, m, CH₂); 1,21 (3H, t, CH₃).

65 APCI-MS m/z: 343 [MH⁺].

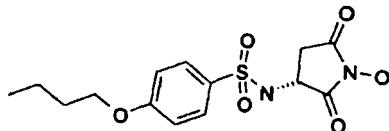
ES 2 314 112 T3

Ejemplo de referencia 11

Los siguientes compuestos se prepararon básicamente como se describe en el Ejemplo 10:

- 5 a) *4-Butoxi-N-(1-hidroxi-2,5-dioxo-pirrolidin-3(*R*)-il)-bencenosulfonamida*

10



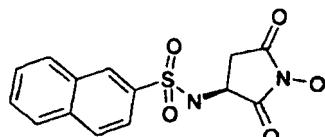
15 RMN de ^1H (400 MHz, CD₃CN) δ 7,81 a 7,77 (2H); 7,08 a 7,04 (2 H); 6,01 (1 H, d a, NH); 4,33 a 4,26 (1H, m); 4,11 a 4,04 (2 H); 2,85 (1H, dd); 2,39 (1H, dd); 1,82 a 1,74 (2 H, m, CH₂); 1,55 a 1,45 (2 H, m, CH₂); 1,21 (3H, t, CH₃).

APCI-MS m/z: 343 [MH⁺].

20

- b) *(1-Hidroxi-2,5-dioxo-pirrolidin-3(*S*)-il)-amida del ácido naftalen-2-sulfónico*

25

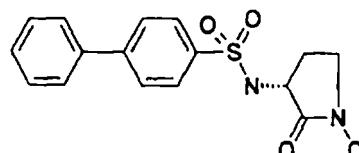


30 RMN de ^1H (400 MHz, CD₃CN) δ 8,51 a 8,48 (1H); 8,12 a 8,01 (3 H); 7,89 a 7,85 (1 H); 7,74 a 7,65 (2 H); 6,36 (1H, NH); 4,38 (1H, m); 2,85 (1H, dd); 2,41 (1H, dd).

Ejemplo 12

- 35 [(3*R*)-(1-Hidroxi-2-oxo-pirrolidin-3-il)-amida del ácido bifenil-4-sulfónico

40



- 45 a) [(3*R*)-(1-benzyloxi-2-oxo-pirrolidin-3-il)-amida del ácido bifenil-4-sulfónico

Se añadió trifluoracetato de (3*R*)-3-amino-1-benzyloxi-pirrolidin-2-ona (71 mg, 0,22 mmol) (documento EP0318 091AR) a diclorometano (20 ml) y diisopropil etilamina (113 ul, 0,66 mmol). Se añadió cloruro de bifenil-4-sulfónico y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. La solución se lavó con agua (2 x 15 ml), se secó con sulfato sódico dando 82 mg (87%) al evaporar.

50 RMN de ^1H CDCl₃: δ 1,94-2,05 (1H, m); 2,43-2,50 (1H, m); 3,16-3,25 (2H, m); 3,67 (1H, dt); 4,95 (1H, s); 5,17 (1H, d); 7,36-7,43 (5H, m); 7,47 (2H, t); 7,59 (2H, d); 7,72 (2H, d); 7,94 (2H, d)

55

APCI-MS m/z: 423 [MH⁺].

- b) [(3*R*)-(1-Hidroxi-2-oxo-pirrolidin-3-il)-amida del ácido bifenil-4-sulfónico

60 Se sometió a hidrogenación a presión atmosférica durante una hora en metanol (20 ml) con paladio sobre sulfato de bario (50 mg, 10%) [(3*R*)-(1-hidroxi-2-oxo-pirrolidin-3-il)-amida del ácido bifenil-4-sulfónico (100 mg, 0,23 mmol). La mezcla se filtró a través de Celite® y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (acetato de etilo-ácido acético, 100:2) dando 54 mg (66%) del compuesto del título.

65 RMN de ^1H DMSOD₆: δ 1,54-1,63 (1H, m); 2,01-2,09 (1H, m); 3,26-3,33 (1H, m); 3,98 (1H, t); 7,43 (1H, t); 7,50 (2H, t); 7,73 (1H, d); 7,89 (4H, abc); 9,8 (1H, sa).

APCI-MS m/z: 333 [MH⁺].

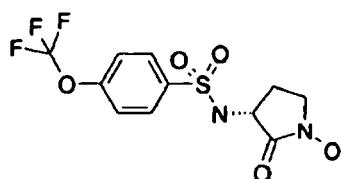
ES 2 314 112 T3

Ejemplo de referencia 13

(3R)-N-(1-hidroxi-2-oxo-pirrolidin-3-il)-4-trifluorometoxi-bencenosulfonamida

5

10



15 a) *(3R)-N-(1-benciloxi-2-oxo-pirrolidin-3-il)-4-trifluorometoxi-bencenosulfonamida*

La sulfonamida intermedia se preparó como en el ejemplo 13a usando cloruro de 4-trifluorometoxi sulfonilo, dando 121 mg (99%) del compuesto del subtítulo.

20

APCI-MS m/z: 431 [MH⁺].

b) *(3R)-N-(1-hidroxi-2-oxo-pirrolidin-3-il)-4-trifluorometoxi-bencenosulfonamida*

25

La hidrogenolisis como en el ejemplo 13 proporcionó 56 mg (58%) del compuesto del título.

RMN de ¹H DMSOD₆: δ 1,85-1,95 (1H, m); 2,10-2,17 (1H, m); 3,52 (1H, c); 3,69 (1H, t); 4,18 (1H, da); 6,95 (1 H, d a, NH); 7,37 (2H, d); 8,05 (2H, d).

30

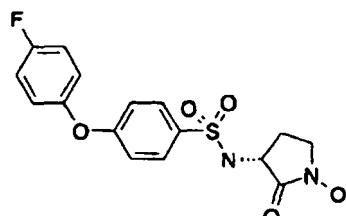
APCI-MS m/z: 341 [MH⁺].

Ejemplo 14

35 *(3R)-4-(4-Fluoro-fenoxy)-N-(1-hidroxi-2-oxo-pirrolidin-3-il)-bencenosulfonamida*

40

45



50

a) *(3R)-4-(4-Fluoro-fenoxy)-N-(1-benciloxi-2-oxo-pirrolidin-3-il)-bencenosulfonamida*

La sulfonamida intermedia se preparó como en el ejemplo 13a usando el cloruro de sulfonilo apropiado, dando 136 mg (99%).

55

APCI-MS m/z: 457 [MH⁺].

b) *(3R)-4-(4-Fluoro-fenoxy)-N-(1-hidroxi-2-oxo-pirrolidin-3-il)-bencenosulfonamida*

60

La hidrogenolisis hasta el compuesto del título como en el ejemplo 13 proporcionó 68 mg (62%).

RMN de ¹H DMSOD₆: δ 1,91-2,01 (1H, m); 2,13-2,21 (1H, m); 3,52 (1H, c); 3,70 (1H, t); 4,09 (1H, t); 7,00-7,13 (6H, m); 7,90 (2H, d).

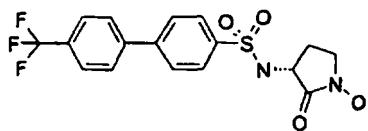
65

APCI-MS m/z: 431 [MH⁺].

ES 2 314 112 T3

Ejemplo 15

(1-Hidroxi-2-oxo-pirrolidin-3-il)-amida del ácido (3)-4'-trifluorometil-bifenil-4-sulfónico



10 a) *(1-Bencíloxi-2-oxo-pirrolidin-3-il)-amida del ácido (3)-4'-trifluorometil-bifenil-4-sulfónico*

La sulfonamida intermedia se preparó como en el ejemplo 13a usando el cloruro de sulfonilo apropiado, proporcionando 106 mg (83%).

15 APCI-MS m/z: 491 [MH⁺].

20 b) *(1-Hidroxi-2-oxo-pirrolidin-3-il)-amida del ácido (3)-4'-trifluorometil-bifenil-4-sulfónico*

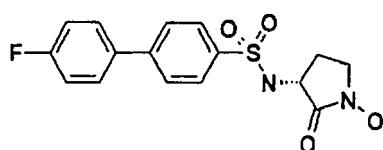
La hidrogenólisis hasta el compuesto del título como en el ejemplo 13 proporcionó 50 mg (58%).

25 RMN de ¹H DMSOD₆: δ 1,60 (1H, sext); 2,03-2,10 (1H, m); 3,27-3,32 (2H, m); 4,00 (1H, t); 7,85 (2H, d); 7,93-7,98 (6H, m); 8,28 (1H, sa); 9,78 (1H, sa).

25 APCI-MS m/z: 401 [MH⁺].

Ejemplo 16

(1-Hidroxi-2-oxo-pirrolidin-3-il)-amida del ácido (3R)-4'-fluoro-bifenil-4-sulfónico



40 a) *(1-Bencíloxi-2-oxo-pirrolidin-3-il)-amida del ácido (3R)-4'-fluoro-bifenil-4-sulfónico*

La sulfonamida intermedia se preparó como en el ejemplo 13a usando el cloruro de sulfonilo apropiado, dando 105 mg (98%).

45 RMN de ¹H DMSOD₆: δ 1,55 (1H, quint); 1,98-2,06 (1H, m); 3,23-3,27 (2H, m); 3,29 (1H, s, bajo el pico HOD); 4,02 (1H, t); 4,85 (2H, s); 7,30-7,40 (6H, m); 7,19 (2H, c); 7,87 (2H, c); 8,27 (1H, sa).

50 APCI-MS m/z: 441 [MH⁺].

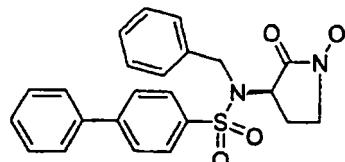
50 b) *(1-Hidroxi-2-oxo-pirrolidin-3-il)-amida del ácido (3R)-4'-fluoro-bifenil-4-sulfónico*

La hidrogenólisis hasta el compuesto del título como en el ejemplo 13 proporcionó 77 mg (92%).

55 APCI-MS m/z: 351 [MH⁺].

Ejemplo 17

60 *Bencil-(1-hidroxi-2-oxo-pirrolidin-3-il)-amida del ácido (3R)-bifenil-4-sulfónico*



ES 2 314 112 T3

a) *Bencil-(1-hidroxi-2-oxo-pirrolidin-3-il)-amida del ácido (3R)-bifenil-4-sulfónico*

El intermedio del ejemplo 13a (126 mg, 0,30 mmol) se agitó en dimetil formamida (3 ml) con bromuro de bencilo (70 μ l, 0,60 mmol) y carbonato de cesio (107 mg, 0,33 mmol) durante 3 horas a temperatura ambiente. La solución se trató con ácido clorhídrico diluido (20 ml), se extrajo en acetato de etilo (3 x 20 ml), las fases orgánicas se reunieron y se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato sódico y se evaporaron dando 152 mg (99%) de residuo. Este se usó en la etapa siguiente sin purificación adicional.

APCI-MS m/z: 513 [MH $^+$].

10

b) *Bencil-(1-hidroxi-2-oxo-pirrolidin-3-il)-amida del ácido (3R)-bifenil-4-sulfónico*

15

La hidrogenolisis hasta el compuesto del título como en el ejemplo 13 proporcionó 70 mg (55%).

15

RMN de ^1H DMSOD₆: δ 1,62 (1H, quint); 2,10-2,16 (1H, m, 1); 3,15 (1H, t); 3,28 (1H, q, Parcialmente obscurecido por HOD); 4,32 (2H, abc); 4,64 (1H, t); 7,23-7,26 (1H, m); 7,30 (2H, t); 7,36 (2H, d); 7,44 (1H, t); 7,52 (2H, t); 7,75 (2H, d); 7,86 (2H, d); 7,98 (2H, d); 9,85 (1H, s).

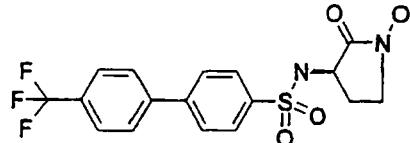
20

APCI-MS m/z: 423 [MH $^+$].

Ejemplo 18

25 (3R)-*N*-(1-hidroxi-2-oxo-pirrolidin-3-il)-4-(4-trifluorometil-fenoxy)-bencenosulfonamida

30



a) (3R)-*N*-(1-hidroxi-2-oxo-pirrolidin-3-il)-4-(4-trifluorometil-fenoxy)-bencenosulfonamida

35

La sulfonamida intermedia se preparó como en el ejemplo 13a usando el cloruro de sulfonilo apropiado, dando 141 mg (75%).

40

APCI-MS m/z: 507 [MH $^+$].

40

b) (3R)-*N*-(1-hidroxi-2-oxo-pirrolidin-3-il)-4-(4-trifluorometil-fenoxy)-bencenosulfonamida

45

La hidrogenolisis hasta el compuesto del título como en el ejemplo 13 proporcionó 20 mg (23%).

45

RMN de ^1H DMSOD₆: δ 1,58 (1H, quint); 2,00-2,08 (1H, m); 3,27-3,32 (2H, m, Parcialmente obscurecido por HOD); 3,95 (1H, t); 7,25 (4H, t); 7,78 (4H, abc); 8,2 (1H, sa); 9,80 (1H, sa).

50

APCI-MS m/z: 417 [MH $^+$].

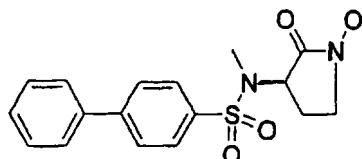
50

Ejemplo 19

(1-Hidroxi-2-oxo-pirrolidin-3-il)-metil-amida del ácido (3R)-bifenil-4-sulfónico

55

60



a) (1-Hidroxi-2-oxo-pirrolidin-3-il)-metil-amida del ácido (3R)-bifenil-4-sulfónico

65

El intermedio se preparó como en el ejemplo 17a usando yoduro de metilo en lugar de bromuro de bencilo proporcionando 150 mg (99%).

APCI-MS m/z: 437 [MH $^+$].

ES 2 314 112 T3

b) (*1-Hidroxi-2-oxo-pirrolidin-3-il)-metil-amida del ácido (3R)-bifenil-4-sulfónico*

La hidrogenolisis hasta el compuesto del título como en el ejemplo 13 proporcionó 57 mg (45%).

5 RMN de ^1H DMSOD₆: δ 1,73-1,83 (1H, m); 2,01-2,10 (1H, m); 2,64 (3H, s); 3,32-3,38 (2H, m, Parcialmente obscurecido por HOD); 4,74 (1H, t); 7,44 (1H, t); 7,51 (2H, t); 7,74 (2H, d); 7,89 (4H, abc); 9,99 (1H, sa).

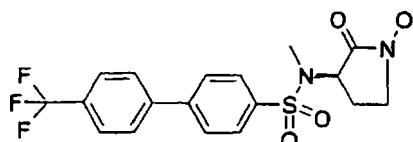
APCI-MS m/z: 347 [MH $^+$].

10

Ejemplo 20

(*1-Hidroxi-2-oxo-pirrolidin-3-il)-metil-amida del ácido (3R)-4'-trifluorometil-bifenil-4-sulfónico*

15



20

a) (*1-Benciloxi-2-oxo-pirrolidin-3-il)-metil-amida del ácido (3R)-4'-trifluorometil-bifenil-4-sulfónico*

El intermedio se preparó como en el ejemplo 19a usando el intermedio del ejemplo 15a proporcionando 23 mg (26%) del compuesto del subtítulo.

25

APCI-MS m/z: 505 [MH $^+$].

30

b) (*1-Hidroxi-2-oxo-pirrolidin-3-il)-metil-amida del ácido (3R)-4'-trifluorometil-bifenil-4-sulfónico*

La hidrogenolisis hasta el compuesto del título como en el ejemplo 13 proporcionó 5 mg (26%) del compuesto del título.

35

RMN de ^1H DMSOD₆: δ 1,76-1,85 (1H, m); 2,04-2,11 (1H, m); 2,65 (3H, s); 3,37 (2H, t); 4,76 (1H, t); 7,86 (2H, d); 7,97 (6H, d); 9,90 (1H, s).

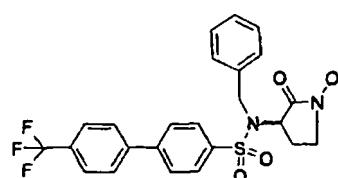
APCI-MS m/z: 415 [MH $^+$].

40

Ejemplo 21

Bencil-(1-hidroxi-2-oxo-pirrolidin-3-il)-amida del ácido (3R)-4'-trifluorometil-bifenil-4-sulfónico

45



50

a) *Bencil-(1-benciloxi-2-oxo-pirrolidin-3-il)-amida del ácido (3R)-4'-trifluorometil-bifenil-4-sulfónico*

El intermedio se preparó como en el ejemplo 17a usando el intermedio del ejemplo 15a proporcionando 130 mg (98%) del compuesto del subtítulo.

55

APCI-MS m/z: 581 [MH $^+$].

60

b) *Bencil-(1-hidroxi-2-oxo-pirrolidin-3-il)-amida del ácido (3R)-4'-trifluorometil-bifenil-4-sulfónico*

La hidrogenolisis hasta el compuesto del título como en el ejemplo 13 proporcionó (70%).

65

RMN de ^1H DMSOD₆: δ 1,57-1,67 (1H, m); 2,10-2,17 (1H, m); 3,15 (1H, t); 3,29 (1H, q, Parcialmente obscurecido por HOD); 4,33 (2H, abc, J=154,18 Hz); 4,66 (1H, t); 7,23-7,36 (5H, m); 7,87 (2H, d); 7,92-8,03 (6H, m); 9,85 (1H, s).

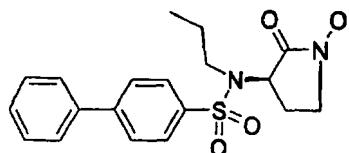
APCI-MS m/z: 491 [MH $^+$].

Ejemplo 22

(1-Hidroxi-2-oxo-pirrolidin-3-il)-propil-amida del ácido (3R)-bifenil-4-sulfónico

5

10



15

a) (Benciloxy-2-oxo-pirrolidin-3-il)-propil-amida del ácido (3R)-bifenil-4-sulfónico

El intermedio se preparó como en el ejemplo 17a usando yoduro de propilo en lugar de bromuro de bencilo proporcionando 91 mg (58%) del compuesto del subtítulo.

20

APCI-MS m/z: 465 [MH⁺].

b) (1-Hidroxi-2-oxo-pirrolidin-3-il)-propil-amida del ácido (3R)-bifenil-4-sulfónico

25

La hidrogenolisis hasta el compuesto del título como en el ejemplo 13 proporcionó 25 mg (34%).

30

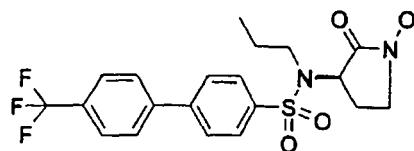
APCI-MS m/z: 375 [MH⁺].

Ejemplo 23

35

(1-Hidroxi-2-oxo-pirrolidin-3-il)-propil-amida del ácido (3R)-4'-trifluorometil-bifenil-4-sulfónico

40



45

a) (1-Hidroxi-2-oxo-pirrolidin-3-il)-propil-amida del ácido (3R)-4'-trifluorometil-bifenil-4-sulfónico

50

Se preparó como en el ejemplo 22a usando el intermedio del ejemplo 15a proporcionando 135 mg (99%) del compuesto del subtítulo.

APCI-MS m/z: 533 [MH⁺].

55

b) (1-Hidroxi-2-oxo-pirrolidin-3-il)-propil-amida del ácido (3R)-4'-trifluorometil-bifenil-4-sulfónico

La hidrogenolisis hasta el compuesto del título como en el ejemplo 13 proporcionó 36 mg (31%).

60

RMN de ¹H DMSOD₆: δ 0,77 (3H, t); 1,49-1,63 (2H, m); 1,80-1,93 (1H, m); 2,14-2,25 (1H, m); 2,92-3,05 (2H, m); 3,36 (2H, quint); 4,63 (1H, t); 7,85 (2H, d); 7,92-8,02 (6H, m); 9,86 (1H, s).

APCI-MS m/z: 443 [MH⁺].

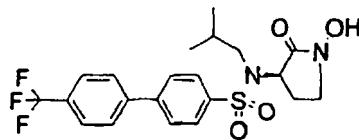
65

Ejemplo 24

(1-Hidroxi-2-oxo-pirrolidin-3-il)-isobutil-amida del ácido (3R)-4'-trifluorometil-bifenil-4-sulfónico

5

10



a) (1-Hidroxi-2-oxo-pirrolidin-3-il)-isobutil-amida del ácido (3R)-4'-trifluorometil-bifenil-4-sulfónico

El intermedio se preparó como en el ejemplo 24a usando bromuro de isobutilo en lugar de yoduro de propilo proporcionando 136 mg (100%) del compuesto del subtítulo.

APCI-MS m/z: 547 [MH⁺].

20 b) (1-Hidroxi-2-oxo-pirrolidin-il)-isobutil-amida del ácido (3R)-4'-trifluorometil-bifenil-4-sulfónico

La hidrogenolisis hasta el compuesto del título como en el ejemplo 13 proporcionó 47 mg (41%).

25 RMN de ¹H DMSOD₆: δ 0,79-0,85 (6H, m); 1,77-1,86 (1H, m); 1,86-1,96 (1H, m); 2,14-2,22 (1H, m); 2,86-2,97 (2H, m); 3,35-3,43 (2H, m); 4,59 (1H, t); 7,86 (2H, d); 7,93-8,01 (6H, m); 9,84 (1H, sa).

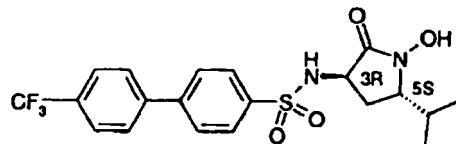
APCI-MS m/z: 457 [MH⁺].

30 Ejemplo de referencia 25

N-[3R,5S]-1-(hidroxi)-5-isopropil-2-oxopirrolidinil]-4'-(trifluorometil)[1,1'-bifenil]-4-sulfonamida

35

40



a) N-[3R,5S]-1-(benciloxi)-5-isopropil-2-oxopirrolidinil]-4'-(trifluorometil)[1,1'-bifenil]-4-sulfonamida

A una solución de trifluoracetato de (3R,5S)-3-amino-1-(benciloxi)-5-isopropil-2-pirrolidinona (0,072 g, 0,19 mmol), trietilamina (0,13 ml, 0,93 mmol) y diclorometano seco (1,0 ml) se añadió en pequeñas porciones cloruro de 4'-(trifluorometil)[1,1'-bifenil]-4-sulfonilo (0,063 g, 0,20 mmol) durante dos minutos. La mezcla se agitó en nitrógeno seco a 22°C durante 45 minutos, se concentró por evaporación rotatoria, se volvió a disolver en diclorometano (2 ml), se mezcló con sílice (1 g), se volvió a concentrar y se aplicó a una columna de sílice. La elución con acetato de etilo/ n-heptano (1:4 a 1:1) y concentración de las fracciones puras dio 0,082 g (83% de rendimiento) del compuesto del título como un sólido blanco. LC-MS (APCI) m/z 533 (M+1). RMN de ¹H (CDCl₃) δ 8,01 (d, J= 8 Hz, 2H), 7,72 (d, J= 8 Hz, 2H), 7,71 (d, J= 8 Hz, 2H) 7,70 (d, J= 8 Hz, 2H), 7,41-7,33 (m, 5H), 5,55 (d, J= 4 Hz, 1H), 5,00 (d, J= 11 Hz, 1H), 4,93 (d, J= 11 Hz, 1H), 3,79 (dt, J₁= 4 Hz, J₂= 9 Hz; 1 H), 3,37-3,31 (m, 1H), 2,29 (ddd, J₁= 2 Hz, J₂= 9 Hz, J₃= 11 Hz; 1H), 2,09-1,98 (m, 2H), 0,85 (d, J= 7 Hz, 3H) y 0,76 (d, J= 7 Hz, 3H) ppm.

55

b) N-[3R,5S]-1-(Hidroxi)-5-isopropil-2-oxopirrolidinil]-4'-(trifluorometil)[1,1'-bifenil]-4-sulfonamida

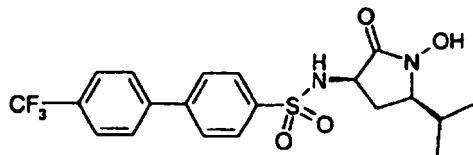
Se sometió a hidrogenación *N*-(3R,5S)-1-(benciloxi)-5-isopropil-2-oxopirrolidinil]-4'-(trifluorometil)[1,1'-bifenil]-4-sulfonamida (0,045 g, 0,084 mmol, Ejemplo 25a) en 8,0 ml de metanol en Pd al 5%/BaSO₄ (0,005 g) a 1 atm de H₂ y 22°C. Después de 5 horas, la solución se filtró a través de Celite y se concentró por evaporación rotatoria proporcionando 0,035 g de producto impuro (pureza por HPLC: 90,5%). Este se purificó por cromatografía semipreparativa [Kromasil™ (250 mm x 20 mm) desde 30 a 70% de acetonitrilo a agua (TFA al 0,1 %) durante 35 minutos a 10 ml/min de caudal] proporcionando 0,028 g (76% de rendimiento) del compuesto del título como un sólido incoloro. LC-MS (APCI) m/z 443 (M+1). RMN de ¹H (CD₃OD) δ 8,04 (d, J= 8 Hz, 2H), 7,89 (d, J= 8 Hz, 2H), 7,88 (d, J= 8 Hz, 2H), 7,79 (d, J= 8 Hz, 2H), 4,04 (t, J= 8 Hz; 1H), 3,36 (dt, J₁= 3 Hz, J₂= 9 Hz, 1H), 2,21-2,10 (m, 2H), 1,86 (ddd, J₁= 9 Hz, J₂= 8 Hz, J₃= 14 Hz; 1H), 0,91 (d, J= 8 Hz, 3H) y 0,80 (d, J= 8 Hz, 3H) ppm.

Ejemplo de referencia 26

N-[(3*R*,5*R*)-1-(hidroxi)-5-isopropil-2-oxopirrolidinil]-4'-(trifluorometil)[1,1'-bifenil]-4-sulfonamida

5

10

a) *N*-[(3*R*,5*R*)-1-(benciloxi)-5-isopropil-2-oxopirrolidinil]-4'-(trifluorometil)[1,1'-bifenil]-4-sulfonamida

A una solución de trifluoracetato de (3*R*,5*R*)-3-amino-1-(benciloxi)-5-isopropil-2-pirrolidinona (0,036 g, 0,10 mmol), trietilamina (0,070 ml, 0,50 mmol) y diclorometano seco (0,70 ml) se añadió en pequeñas porciones cloruro de 4'-(trifluorometil)[1,1'-bifenil]-4-sulfonilo (0,034 g, 0,11 mmol) durante dos minutos. La mezcla se agitó en nitrógeno seco a 22°C durante 60 minutos, se concentró por evaporación rotatoria, se volvió a disolver en diclorometano (2 ml), se mezcló con sílice (1 g), se volvió a concentrar y se aplicó a una columna de sílice. La elución con acetato de etilo/ n-heptano (1:4 a 1:3) y concentración de las fracciones puras dio 0,030 g (57% de rendimiento) del compuesto del título como un sólido blanco. LC-MS (APCI) *m/z* 533 (M+1). RMN de ¹H (CDCl₃) δ 8,02 (d, *J*= 8 Hz, 2H), 7,74 (d, *J*= 8 Hz, 2H), 7,72 (d, *J*= 8 Hz, 2H) 7,70 (d, *J*= 8 Hz, 2H), 7,40-7,30 (m, 5H), 5,43 (d, *J*= 3 Hz, 1H), 4,99 (d, *J*= 10 Hz, 1H), 4,88 (d, *J*= 10 Hz, 1H), 3,76 (dt, *J*₁= 3 Hz, *J*₂= 9 Hz, 1H), 3,31 (ddd, *J*₁= 4 Hz, *J*₂= 6 Hz, *J*₃= 9 Hz, 1H), 2,40 (ddd, *J*₁= 7 Hz, *J*₂= 9 Hz, *J*₃= 13 Hz, 1H), 2,20-2,08 (m, 1H), 1,76 (dt, *J*₁= 9 Hz, *J*₂= 13 Hz, 1H), 0,85 (d, *J*= 7 Hz, 3H) y 0,83 (d, *J*= 7 Hz, 3H) ppm.

25

b) *N*-[(3*R*,5*R*)-1-(Hidroxi)-5-isopropil-2-oxopirrolidinil]-4'-(trifluorometil)[1,1'-bifenil]-4-sulfonamida

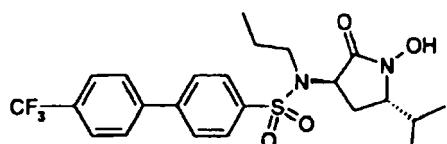
Se sometió a hidrogenación *N*-[(3*R*,5*R*)-1-(benciloxi)-5-isopropil-2-oxopirrolidinil]-4'-(trifluorometil)[1,1'-bifenil]-4-sulfonamida (0,030 g, 0,056 mmol, Ejemplo 26a) en 5,0 ml de metanol en Pd al 5%/BaSO₄ (0,004 g) a 1 atm de H₂ y 22°C. Después de 5 horas, la solución se filtró a través de Celite y se concentró por evaporación rotatoria proporcionando 0,024 g de producto impuro (pureza por HPLC: 84-86%). Este se purificó por cromatografía semipreparativa [Kromasil™ (250 mm x 20 mm) desde 30 a 70% de acetonitrilo a agua (TFA al 0,1 %) durante 35 minutos a 10 ml/min de caudal] proporcionando 0,018 g (72% de rendimiento) del compuesto del título como un sólido incoloro. LC-MS (APCI) *m/z* 443 (M+1). RMN de ¹H (CD₃OD) δ 8,05 (d, *J*= 9 Hz, 2H), 7,89 (d, *J*= 8 Hz, 2H), 7,88 (d, *J*= 8 Hz, 2H) 7,79 (d, *J*= 9 Hz, 2H), 4,03 (t, *J*= 9 Hz, 1H), 3,53 (ddd, *J*₁= 4 Hz, *J*₂= 6 Hz, *J*₃= 9 Hz, 1H), 2,27-2,11 (m, 2H); 1,50 (dt, *J*₁= 10 Hz, *J*₂= 13 Hz, 1H), 0,90 (d, *J*= 7 Hz, 3H) y 0,85 (d, *J*= 7 Hz, 3H) ppm.

40 Ejemplo de referencia 27

N-[(3*R*,5*S*)-1-(hidroxi)-5-isopropil-2-oxopirrolidinil]-*N*-propil-4'-(trifluorometil)[1,1'-bifenil]-4-sulfonamida

45

50



55

a) *N*-[(3*R*,5*S*)-1-(benciloxi)-5-isopropil-2-oxopirrolidinil]-*N*-propil-4'-(trifluorometil)[1,1'-bifenil]-4-sulfonamida

Se agitó *N*-[(3*R*,5*S*)-1-(benciloxi)-5-isopropil-2-oxopirrolidinil]-4'-(trifluorometil)[1,1'-bifenil]-4-sulfonamida (0,047 g, 0,088 mmol, Ejemplo 27a), 1-yodopropano (0,052 ml, 0,53 mmol), carbonato de cesio (0,043 g, 0,13 mmol) y *N,N*-dimetilformamida anhidra (0,50 ml) a 55°C (temperatura de aceite) durante la noche, se concentró por evaporación rotatoria, se suspendió en éter dietílico y se lavó una vez con agua. La fase acuosa se lavó con una segunda porción de éter dietílico, se lavaron los extractos orgánicos reunidos con salmuera, se secaron sobre carbonato potásico, se filtraron y se concentraron por evaporación rotatoria. La cromatografía ultrarrápida del producto bruto sobre sílice usando diclorometano-metanol (99: 1) como eluyente dio el compuesto del título como un aceite incoloro.

60

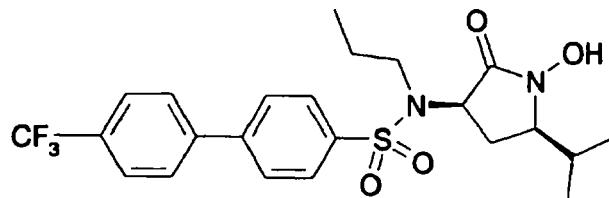
LC-MS (APCI) *m/z* 575 (M+1). RMN de ¹H (CDCl₃) δ 8,12 (d, *J*= 8 Hz, 2H), 7,74-7,69 (m, 5H), 7,72 (d, *J*= 8 Hz, 2H), 7,44-7,34 (m, 4H), 5,01 (s, 2H), 4,48 (dd, *J*₁= 8 Hz, *J*₂= 10 Hz, 1H), 3,45 (dt, *J*₁= 3 Hz, *J*₂= 9 Hz, 1H), 3,10-2,98 (m, 2H), 2,24 (ddd, *J*₁= 2 Hz, *J*₂= 10 Hz, *J*₃= 14 Hz, 1H), 2,20-2,10 (m, 1H), 2,03 (dt, *J*₁= 9 Hz, *J*₂= 14 Hz, 1H), 1,73-1,51 (m, 2H), 0,87 (d, *J*= 7 Hz, 3H), 0,84 (d, *J*= 7 Hz, 3H) y 0,82 (t obscurecido, *J*= 7 Hz, 3H) ppm.

65

b) *N*-(3*R*,5*S*)-1-(hidroxi)-5-isopropil-2-oxopirrolidinil]-*N*-propil-4'-(trifluorometil) [1,1'-bifenil]-4-sulfonamida

Se sometió a hidrogenación *N*-(3*R*,5*S*)-1-(bencíloxi)-5-isopropil-2-oxopirrolidinil]-*N*-propil-4'-(trifluorometil) [1,1'-bifenil]-4-sulfonamida (0,023 g, 0,040 mmol, Ejemplo 28a) en 5,0 ml de metanol en Pd al 5%/BaSO₄ (0,005 g) a 1 atm de H₂ y 22°C. Después de 6 horas se filtró la solución a través de Celite y se concentró por evaporación rotatoria proporcionando 0,019 g (98% de rendimiento) del compuesto del título como un sólido blanco. LC-MS (APCI) m/z 485 (M+1). RMN de ¹H (DMSO-d₆) δ 9,90 (s ancho, 1H), 8,04 (d, J= 8 Hz, 2H), 7,99 (d, J= 8 Hz, 2H), 7,97 (d, J= 8 Hz, 2H), 7,88 (d, J= 8 Hz, 2H), 4,53 (dd, J₁= 8 Hz, J₂= 10 Hz, 1H), 3,62 (dt, J₁= 3 Hz, J₂= 9 Hz, 1H), 3,08-2,90 (m sim, 2H), 2,14-2,02 (m sim, 2H), 1,87 (ddd, J₁= 8 Hz, J₂= 9 Hz, J₃= 14 Hz, 1H), 1,67-1,49 (m sim, 2H), 0,86 (d, J= 7 Hz, 3H), 0,80 (t, J= 7 Hz, 3H) y 0,77 (d, J= 7 Hz, 3H) ppm.

Ejemplo de referencia 28

15 *N*-1(3*R*,5*R*)-1-(hidroxi)-5-isopropil-2-oxopirrolidinil]-*N*-propil-4'-(trifluorometil)[1,1'-bifenil]-4-sulfonamidaa) *N*-(3*R*,5*R*)-1-(bencíloxi)-5-isopropil-2-oxopirrolidinil]-*N*-propil-4'-(trifluorometil)[1,1'-bifenil]-4-sulfonamida

30 Se agitó *N*-(3*R*,5*R*)-1-(bencíloxi)-5-isopropil-2-oxopirrolidinil]-4'-(trifluorometil)[1,1'-bifenil]-4-sulfonamida (0,030 g, 0,056 mmol, Ejemplo 27b), 1-yodopropano (0,033 ml, 0,34 mmol), carbonato de cesio (0,028 g, 0,085 mmol) y *N,N*-dimetilformamida anhidra (0,40 ml) a 55°C (temperatura de aceite) durante la noche, se concentró por evaporación rotatoria, se suspendió en éter dietílico y se lavó una vez con agua. La fase acuosa se lavó con una segunda porción de éter dietílico, se lavaron los extractos orgánicos reunidos con salmuera, se secaron sobre carbonato potásico, se filtraron y se concentraron por evaporación rotatoria. La cromatografía ultrarrápida del producto bruto sobre sílice usando diclorometano-metanol (99:1) como eluyente dio el compuesto del título como un aceite incoloro.

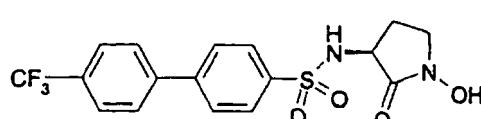
40 LC-MS (APCI) m/z 575 (M+1). RMN de ¹H (CDCl₃) δ 8,10 (d, J= 9 Hz, 2H), 7,73 (d, J= 9 Hz, 2H), 7,72 (s ap, 5H), 7,43-7,34 (m, 4H), 5,09 (d, J= 10 Hz, 1H), 4,92 (d, J= 10 Hz, 1H), 4,54 (t, J= 10 Hz, 1H), 3,34 (ddd, J₁= 4 Hz, J₂= 6 Hz, J₃= 10 Hz, 1H), 3,12 (t, J= 8 Hz, 2H), 2,30 (ddd, J₁= 7 Hz, J₂= 10 Hz, J₃= 13 Hz, 1H), 2,24-2,14 (m, 1H), 1,88-1,58 (m's, 3H), 0,90 (d, J= 7 Hz, 3H), 0,89 (d, J= 7 Hz, 3H) y 0,84 (t, J= 7 Hz, 3H) ppm.

45 b) *N*-(3*R*,5*R*)-1-(hidroxi)-5-isopropil-2-oxopirrolidinil]-*N*-propil-4'-(trifluorometil)[1,1'-bifenil]-4-sulfonamida

Se sometió a hidrogenación *N*-(3*R*,5*R*)-1-(bencíloxi)-5-isopropil-2-oxopirrolidinil]-*N*-propil-4'-(trifluorometil) [1,1'-bifenil]-4-sulfonamida (0,015 g, 0,026 mmol, Ejemplo 28b) en 5,0 ml de metanol en Pd al 5%/BaSO₄ (0,005 g) a 1 atm de H₂ y 22°C.

50 Despues de 6 horas se filtró la solución a través de Celite y se concentró por evaporación rotatoria proporcionando 0,012 g (95% de rendimiento) del compuesto del título como un sólido blanco. LC-MS (APCI) m/z 485 (M+1). RMN de ¹H (CD₃OD) δ 8,07 (d, J= 8 Hz, 2H), 7,89 (d, J= 6 Hz, 2H), 7,87 (d, J= 6 Hz, 2H), 7,79 (d, J= 8 Hz, 2H), 4,69 (t, J= 10 Hz, 1H), 3,57 (ddd, J₁= 4 Hz, J₂= 7 Hz, J₃= 10 Hz, 1H), 3,10 (t, J= 8 Hz, 2H), 2,30-2,18 (m, 2H), 1,81-1,57 (m's, 3H), 0,95 (d, J= 7 Hz, 3H), 0,90 (d, J= 7 Hz, 3H) y 0,85 (t, J= 8 Hz, 3H) ppm.

55 Ejemplo 29

60 *N*-(3*S*)-1-hidroxi-2-oxopirrolidinil]-4'-(trifluorometil)[1,1'-bifenil]-4-sulfonamida

ES 2 314 112 T3

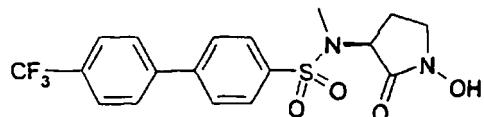
Se preparó como se describe para el enantiómero R en el Ejemplo 15.

5 RMN de ^1H DMSOD₆: δ 1,60 (1H, sext); 2,03-2,10 (1H, m); 3,27-3,32 (2H, m); 4,00 (1H, t); 7,85 (2H, d); 7,93-7,98 (6H, m); 8,28 (1H, sa); 9,78 (1H, sa).

APCI-MS m/z: 401 [MH $^+$].

Ejemplo 30

10 N-[*(3S*)-1-hidroxi-2-oxopirrolidinil]-N-metil-4’-(trifluorometil)[1,1’-bifenil]-4-sulfonamida



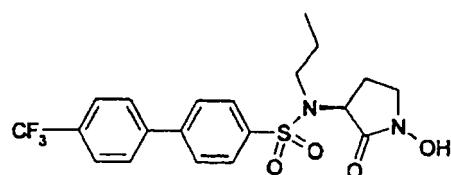
Se preparó como se describe para el enantiómero R en el Ejemplo 20.

20 RMN de ^1H DMSOD₆: δ 1,76-1,85 (1H, m); 2,04-2,11 (1H, m); 2,65 (3H, s); 3,37 (2H, t); 4,76 (1H, t); 7,86 (2H, d); 7,97 (6H, d); 9,90 (1H, s).

APCI-MS m/z: 415 [MH $^+$].

Ejemplo 31

30 N-[*(3S*)-1-hidroxi-2-oxopirrolidinil]-N-propil-4’-(trifluorometil)[1,1’-bifenil]-4-sulfonamida



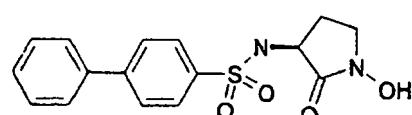
40 Se preparó como se describe para el enantiómero R en el Ejemplo 23.

45 RMN de ^1H DMSOD₆: δ 0,79-0,85 (6H, m); 1,77-1,86 (1H, m); 1,86-1,96 (1H, m); 2,14-2,22 (1H, m); 2,86-2,97 (2H, m); 3,35-3,43 (2H, m); 4,59 (1H, t); 7,86 (2H, d); 7,93-8,01 (6H, m); 9,84 (1H, sa).

APCI-MS m/z: 457 [MH $^+$].

Ejemplo 32

50 N-[*(3S*)-1-hidroxi-2-oxopirrolidinil][1,1’-bifenil]-4-sulfonamida



Se preparó como se describe para el enantiómero R en el Ejemplo 12.

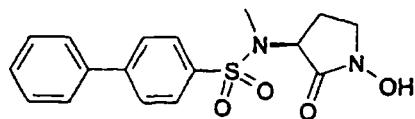
60 RMN de ^1H DMSOD₆: δ 1,54-1,63 (1H, m); 2,01-2,09 (1H, m); 3,26-3,33 (1H, m); 3,98 (1H, t); 7,43 (1H, t); 7,50 (2H, t); 7,73 (1H, d); 7,89 (4H, abc); 9,8 (1H, sa).

APCI-MS m/z: 333 [MH $^+$].

ES 2 314 112 T3

Ejemplo 33

N-[*(3S*)-1-hidroxi-2-oxopirrolidinil]-N-metil[1,1'-bifenil]-4-sulfonamida



5

Se preparó como se describe para el enantiómero R en el Ejemplo 19.

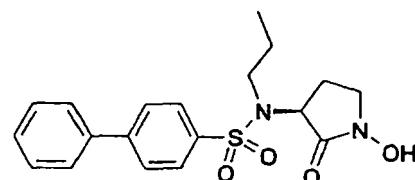
10 RMN de ^1H DMSOD₆: δ 1,73-1,83 (1H, m); 2,01-2,10 (1H, m); 2,64 (3H, s); 3,32-3,38 (2H, m, Parcialmente obscurecido por HOD); 4,74 (1H, t); 7,44 (1H, t); 7,51 (2H, t); 7,74 (2H, d); 7,89 (4H, abc); 9,99 (1H, sa).

15

APCI-MS m/z: 347 [MH $^+$].

20 Ejemplo 34

N-[*(3S*)-1-hidroxi-2-oxopirrolidinil]-N-propil[1,1'-bifenil]-4-sulfonamida



25

Se preparó como se describe para el enantiómero R en el Ejemplo 22.

30 RMN de ^1H DMSOD₆: δ 0,78 (3H, t); 1,50-1,62 (2H, m); 1,82-1,91 (1H, m); 2,15-2,32 (1H, m); 2,90-3,06 (2H, m); 3,32-3,40 (2H, m, Parcialmente obscurecido por HOD); 4,62 (1H, t); 7,44 (1H, t); 7,51 (2H, t); 7,86 (2H, d); 7,97 (2H, d); 9,86 (1H, sa).

35

APCI-MS m/z: 375 [MH $^+$].

40

45

50

55

60

65

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de la fórmula I o una de sus sales farmacéuticamente aceptables o uno de sus ésteres hidrolizables *in vivo*



en la que:

20 X se selecciona de CO o CH₂;

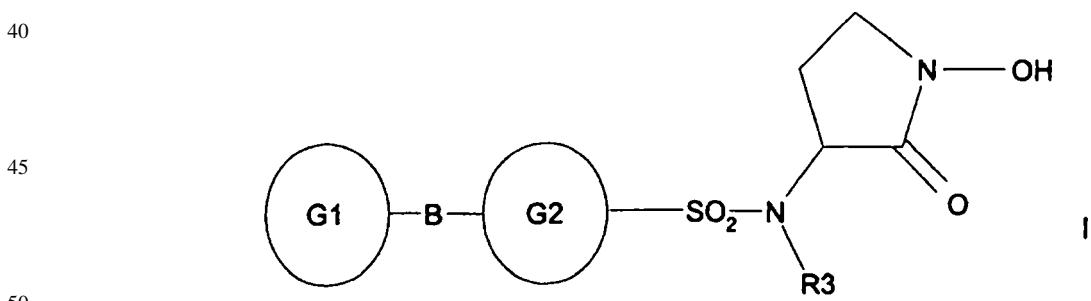
Z se selecciona de SO₂ o SO₂N(R3);

25 R3 se selecciona de H, alquilo C1-6, fenil-alquilo C1-6 o heteroaril-alquilo C1-6;

30 R5 es un grupo di- o tricíclico que comprende dos o tres estructuras de anillo, cada una de hasta 7 átomos de anillo, seleccionadas independientemente de arilo y heterocicloalquilo, estando cada estructura de anillo de forma independiente opcionalmente sustituida con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente de halógeno, alquilo C1-6, haloalquilo C1-6, alcoxi C1-6 y haloalcoxi C1-6; estando cada estructura de anillo unida al anillo siguiente por un enlace directo o por -O-.

2. Un compuesto según la reivindicación 1 o una de sus sales farmacéuticamente aceptables o uno de sus ésteres hidrolizables *in vivo* en el que R3 es H, alquilo C1-6 o fenil-alquilo C1-6.

35 3. Un compuesto según la reivindicación 1 de la fórmula II o una de sus sales farmacéuticamente aceptables o uno de sus ésteres hidrolizables *in vivo*



en la que:

R3 se selecciona de H, alquilo C1-6 o fenil-alquilo C1-6;

55 cada uno de G1 y G2 es un grupo monocíclico, comprendiendo cada uno una estructura de anillo de hasta 7 átomos de anillo, seleccionada independientemente de arilo y heterocicloalquilo, estando cada estructura de anillo de forma independiente opcionalmente sustituida con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente de halógeno, alquilo C1-6, haloalquilo C1-6, alcoxi C1-6 y haloalcoxi C1-6;

60 B es un enlace directo u -O-;

4. Un compuesto según la reivindicación 3 o una de sus sales farmacéuticamente aceptables o uno de sus ésteres hidrolizables *in vivo* en el que B es un enlace directo.

65 5. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la fórmula I según la reivindicación 1 o un compuesto de la fórmula II según la reivindicación 3 o una de sus sales farmacéuticamente aceptables o uno de sus ésteres hidrolizables *in vivo* y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

ES 2 314 112 T3

6. Un compuesto de la fórmula I según la reivindicación 1 o un compuesto de la fórmula II según la reivindicación 3 o una de sus sales farmacéuticamente aceptables o uno de sus ésteres hidrolizables *in vivo* para uso en un procedimiento de tratamiento terapéutico del cuerpo de un ser humano o un animal.
- 5 7. Un compuesto de la fórmula I según la reivindicación 1 o un compuesto de la fórmula II según la reivindicación 3 o una de sus sales farmacéuticamente aceptables o uno de sus ésteres hidrolizables *in vivo* para uso como un agente terapéutico.
- 10 8. El uso de un compuesto de la fórmula I según la reivindicación 1 o un compuesto de la fórmula II según la reivindicación 3 o una de sus sales farmacéuticamente aceptables o uno de sus ésteres hidrolizables *in vivo* en la preparación de un medicamento para usar en el tratamiento de un estado de enfermedad mediado por una o más enzimas metaloproteinasas.

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65