



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 289 140**

(51) Int. Cl.:

**A61K 31/4015** (2006.01)

**C07D 207/12** (2006.01)

**C07D 207/46** (2006.01)

**A61P 19/10** (2006.01)

(12)

### TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(86) Número de solicitud europea: **02762347 .9**

(86) Fecha de presentación : **11.07.2002**

(87) Número de publicación de la solicitud: **1408961**

(87) Fecha de publicación de la solicitud: **21.04.2004**

(54) Título: **Derivados de 2-pirrolidona como agonistas de prostanoide.**

(30) Prioridad: **16.07.2001 US 305762 P**

(73) Titular/es: **F. HOFFMANN-LA ROCHE AG.  
Grenzacherstrasse 124  
4070 Basel, CH**

(45) Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**01.02.2008**

(72) Inventor/es: **Elworthy, Todd, Richard;  
Roepel, Michael, Garret y  
Smith, David, Bernard**

(45) Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**01.02.2008**

(74) Agente: **Ungría López, Javier**

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

## DESCRIPCIÓN

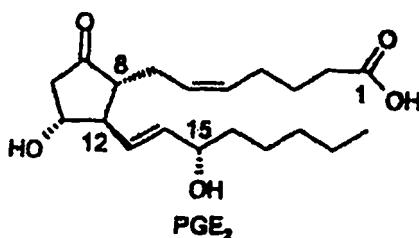
Derivados de 2-pirrolidona como agonistas de prostanoide.

5 Esta invención se refiere a ciertos derivados de 2-pirrolidona, y composiciones farmacéuticas asociadas, métodos para su utilización como agonistas de EP<sub>4</sub> de prostaglandina selectivos, y métodos de preparación de los mismos.

10 En la bibliografía, existen muchas referencias a prostaglandinas o prostanoideos (PGs), un término que es genérico para prostaglandinas naturales y sintéticas y compuestos tipo prostaglandina, y se sabe que incluso ligeras diferencias en sus estructuras químicas o configuraciones estereoquímicas pueden tener profundos efectos en su actividad biológica.

15 Las prostaglandinas o prostanoideos (PGs) constituyen un grupo de compuestos bioactivos derivados de fosfolípidos de membrana, y están formados por ácidos grasos esenciales de 20 átomos de carbono y contienen un anillo de ciclopentano. Entran dentro de diversas clases principales designadas por letras y se distinguen por sustituciones en el anillo de ciclopentano. Las clases principales se subdividen a su vez con los subíndices 1, 2 ó 3 que reflejan sus ácidos grasos precursores.

20 Un ejemplo de una especie particular de prostaglandina E es PGE<sub>2</sub>, que tiene la siguiente estructura:



25 Actualmente, se conocen cuatro subtipos de receptor de PGE<sub>2</sub> diferentes y se designan como EP<sub>1</sub>, EP<sub>2</sub>, EP<sub>3</sub> y EP<sub>4</sub>.

30 Las aplicaciones para los compuestos que poseen una fuerte actividad de unión a receptores de PGE<sub>2</sub> comprenden la prevención y/o tratamiento de enfermedades inmunológicas (enfermedades autoinmunes, transplante de órganos, etc.), asma, formación anormal de huesos, muerte de células neuronales, trombosis y ataque apoplético, hepatopatía, aborto, disfunción sexual femenina y masculina, nacimiento prematuro, inflamación tal como artritis reumatoide o trastornos neuropatológicos de la retina tales como glaucoma.

35 40 Las prostaglandinas y sus receptores asociados están descritos con más detalle, por ejemplo, por M. Abramovich y col. “La utilización de receptores de prostanoideos recombinantes para determinar las afinidades y selectividades de prostaglandinas y análogos relacionados”, *Biochimica et Biophysica Acta* 2000, 1483, 285-293.

45 La implicación de agonistas de receptor de prostaglandina E en la resorción de huesos está descrita, por ejemplo, por T- Suzawa y col., “El papel de subtipos de receptor de prostaglandina E en la resorción de huesos: Un análisis utilizando agonistas específicos para los EPs respectivos”, *Endocrinology* 2000, 141, 1554-1559, K. Ono y col. “El importante papel de EP4, un subtipo de receptor de prostaglandina (PG) E, en la formación celular tipo osteoclasta de células de médula ósea de ratón inducida por PGE2”, *J. of Endocrinology*, 1998, 158, R1-R5; M. Suda y col., “Subtipos de receptor de prostaglandina E en línea celular osteoblástica de ratón”, *Endocrinology*, 1996, 137, 1698-1705.

50 55 Estos agonistas de receptor de prostaglandina E selectivos son útiles también para tratamiento de lesiones gástricas, véase, por ejemplo, H. Araki y col. “Los papeles de subtipos de receptor de prostaglandina E en la acción citoprotectora de prostaglandina E<sub>2</sub> en estómago de ratas”, *Aliment. Pharmacol. Ther.*, 2000, 14 (Supl. 1), 116-124, T. Kunikata y col., “La prostaglandina tipo E inhibe las pequeñas lesiones intestinales inducidas por indometacina a través de receptores EP3 y EP4: Un estudio que utiliza ratas y ratones anestesiados”, *Gastroenterology* 118, Abstract #3787.

60 65 Otros usos de los agonistas de receptores de prostaglandina E son el de mejorar la función renal como describen, por ejemplo, M. D. Breyer y col. “Receptores de prostaglandina E y el riñón”, *Am. J. Physiol.* 2000, 279, F12-F23, y K-E. Purdy y col., “Acciones de prostaglandina E<sub>2</sub> mediadas por receptores EP1 y EP4 en la microcirculación del riñón de ratas”, *Am. J. Physiol.* 2000, 279, F755-F764; para trombosis y ataque apoplético así como para otros estados en los que puede ser beneficiosa una inhibición de la agregación de plaquetas, como se describe, por ejemplo, por B.Z.S. Paul y col. en “Distribución de subtipos de receptor IP y EP de prostaglandina e isoformas en plaquetas y células de músculo liso de arterias umbilicales humanas”, *Br. J. Haematol.* 1998, 102, 1204-1211; para efectos antiinflamatorios a través de la inhibición de alfa-generación de TNF como se describe, por ejemplo, por K. K. Meja y col. en “Caracterización de receptor(es) de prostanoideos en monocitos de sangre humana en los que la prostaglandina E2 inhibe la alfa-generación de factor de necrosis de tumor inducida por lipopolisacárido”, *Br. J. Pharmacol.* 1997, 122, 149-157, y A. Eigler y col. en “Actividades antiinflamatorias de agentes de elevación de AMPc; potenciamiento de síntesis de IL-10 y supresión concurrente de producción de TNF”, *J. Leukoc. Biol.* 1998, 63, 101-107; o para glaucoma como está descrito por, por

# ES 2 289 140 T3

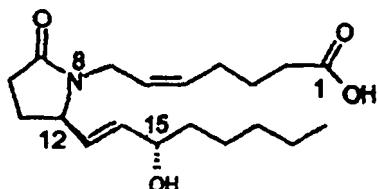
ejemplo, por M. Takamatsu y col. en "Localización de subtipos de receptor de prostaglandina E en el cuerpo ciliar del ojo de ratón", *Exp. Eye Res.* 2000, 70, 623-628, y D. F. Woodward y col., en "Caracterización molecular y propiedades hipotensoras oculares del receptor EP2 de prostanoide", *J. Ocul. Pharmacol. Ther.*, 1995, 11, 447.

5 En la Publicación de Solicitud Internacional No. WO 99/02164, asignada a Pharmacia & Upjohn AB está descrito el tratamiento de la impotencia y/o disfunción eréctil por utilización de prostaglandinas que son ligandos selectivos de receptor EP<sub>2</sub> y/o EP<sub>4</sub>.

10 En "The Pharmacological Basis of Therapeutics", de Goodman & Gillman's, novena edición, Mc Graw Hill, Nueva York, 1996, Capítulo 26, páginas 601-616 se da información adicional relativa a prostaglandinas y sus receptores.

Otros derivados de prostaglandina están descritos en la Patente europea EP 1132086 para el tratamiento de fallo renal, en WO 01/62724 para el tratamiento de restinosis post-PTA, en WO 02/42268 para el tratamiento de enfermedades inmunológicas y en EP 1097 922 para el tratamiento de disfunción eréctil.

15 Los análogos de 8-aza-11-desoxiprostaglandina que corresponden a PGE<sub>2</sub> pueden tener la siguiente estructura:

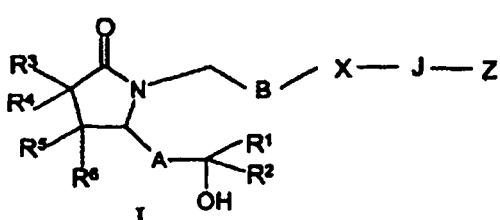


25 8-Aza-11-desoxi-prostaglandina.

30 La sustitución de carbono por nitrógeno en C-8 da lugar a un cambio en la conformación tridimensional de la prostaglandina resultante, y, debido a que la estructura está relacionada con la actividad biológica, tal cambio conformacional tendrá un efecto significativo sobre la actividad biológica. Las 8-aza-11-desoxi prostaglandinas E con cadenas laterales naturales están descritas en la bibliografía: véase, por ejemplo BE 841.165, concedida a Syntex USA, Inc.

35 Los compuestos de esta invención son análogos de 8-azaprostaglandina con una cadena lateral sustituida en N, no natural, que contiene un heteroátomo, que cambia además la conformación de los análogos resultantes. Estos compuestos poseen una alta selectividad en su actividad agonista de receptor EP<sub>4</sub>. El incremento en la selectividad aliviará los severos efectos secundarios frecuentemente observados después de la administración de agonistas de prostaglandinas no selectivos. Son deseables, por lo tanto, los compuestos de esta invención.

40 Esta invención se refiere a compuestos representados por la Fórmula I:



45 donde:

55 B es -CH<sub>2</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>-, -CH=CH-, -CH<sub>2</sub>-CH=CH-, -CH=CH-CH<sub>2</sub>-, ó -CH<sub>2</sub>-CH=CH-CH<sub>2</sub>-;

X es -NR<sup>a</sup>- siendo R<sup>a</sup> hidrógeno, halógeno, alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> o acilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, -O-, -S-, -SO- ó -SO<sub>2</sub>-.

60 J es -(CR<sup>b</sup>R<sup>c</sup>)<sub>n</sub>, siendo n un entero de 1 a 4, y R<sup>b</sup> y R<sup>c</sup> son, ambos, hidrógeno, o uno o dos R<sup>b</sup> y R<sup>c</sup> son alquilo inferior y los restantes hidrógeno o R<sup>b</sup> y R<sup>c</sup> si se unen al mismo átomo de carbono forman grupo polimetíleno de C<sub>2</sub>-C<sub>5</sub>, ó -CH<sub>2</sub>-CH=CH-;

A es -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-, -CH=CH-, ó -C≡C-.

65 Z es CH<sub>2</sub>OH, -C(O)OR', -C(O)NR'R'', -C(O)NSO<sub>2</sub>R', -P-alquil(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)(O)(OR'), -PO(OR')<sub>2</sub>, o tetrazol-5-ilo, donde R' y R'' son, independientemente entre sí distintos a hidrógeno o alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>.

# ES 2 289 140 T3

n es 1, 2, 3 ó 4.

R<sup>1</sup> es -(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>R<sup>7</sup> ó -(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>OR<sup>8</sup>, donde R<sup>7</sup> y R<sup>8</sup> son, cada uno independientemente entre si alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, haloalquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, cicloalquilo de C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>, heterociclico, arilo o heteroarilo.

5

p y q son, cada uno independientemente entre sí, 0, 1, 2, 3, 4 ó 5

R<sub>2</sub> es hidrógeno, alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alquenilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, o alquinilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, y

10 R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>5</sup> y R<sup>6</sup> son, independientemente entre sí, hidrógeno o alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>; o sus sales farmacéuticamente aceptables. Los anteriores compuestos incluyen sus solvatos.

15 En otro aspecto, la invención se refiere a composiciones farmacéuticas que contienen una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un compuesto de Fórmula I o su sal farmacéuticamente aceptable o solvato, profármaco, isómero individual o mezcla racémica o no-racémica de isómeros, en mezcla con al menos un adecuado vehículo, diluyente o excipiente.

20 En otro aspecto de la invención se proporciona un método de tratamiento de una enfermedad, en particular una enfermedad de huesos en un mamífero, que puede tratarse por administración de un agonista de receptor EP<sub>4</sub> de prostaglandina que comprende la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmula I o su sal farmacéuticamente aceptable.

En otro aspecto de la invención se proporciona un procedimiento para preparar compuestos de la Fórmula I.

25 A menos que se establezca otra cosa, los términos siguientes utilizados en la memoria descriptiva y reivindicaciones tienen los significados dados a continuación:

30 “Alcoxi” significa radical -OR donde R es un alquilo tal como aquí se define. por ejemplo, metoxi, etoxi, propoxi, butoxi y similares.

“Alquilo” significa un radical hidrocarburo lineal monovalente saturado de uno a seis átomos de carbono o un radical de hidrocarburo ramificado monovalente saturado de tres a seis átomos de carbono, por ejemplo, metilo, etilo, propilo, 2-propilo, n-butilo, isobutilo, terc-butilo, pentilo y similares.

35 “Alquieno” significa un radical divalente de hidrocarburo saturado lineal, de uno a seis átomos de carbono, o un radical divalente de hidrocarburo saturado ramificado, de tres a seis átomos de carbono, por ejemplo, metileno, etileno, 2,2-dimetiletileno, propileno, 2-metilpropileno, butileno, pentileno, y similares.

40 “Alquiltio” significa un radical -SR donde R es un alquilo como el definido antes, tal como metiltio, etiltio, propiltio, butiltio, y similares.

45 “Arilo” significa un radical hidrocarburo aromático monovalente monocíclico o bicíclico que está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes, preferiblemente uno, dos o tres, seleccionados, independientemente, del grupo que consiste en alquilo, haloalquilo, halo, nitro, ciano, amino, metilendioxilo, etilendioxilo, fenilo opcionalmente sustituido con Y, Y-heteroarilo, Y-cicloalquilo, -Y-heterociclico, -Y-OR', Y-NR'R'', -YC(O)-R' -Y-S(O)<sub>0-2</sub>-R', Y-N-SO<sub>2</sub>-R', Y-SO<sub>2</sub>-NR'R'', -Y-N-C(O)-NR'R'', donde Y es un enlace o un grupo alquieno de C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>, y R' y R'' son, independientemente entre sí, hidrógeno, alquilo, haloalquilo, hidroxi, alcoxi, fenilo opcionalmente sustituido, heteroarilo, cicloalquilo, heterociclico. Más específicamente, el término arilo incluye, sin que quede limitado solo a ellos, fenilo, clorofenilo, metoxifenilo, metoximetifenilo, feniloxifenilo, 1-naftilo, 2-naftilo, y derivados del mismo.

50

“Cicloalquilo” se refiere a un radical monovalente de hidrocarburo cíclico saturado de tres a siete carbonos en el anillo, por ejemplo, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclohexilo, 4-metil-ciclohexilo, y similares.

55

“Halo” significa fluoro, cloro, bromo o yodo, preferiblemente fluoro y cloro.

“Haloalquilo” significa alquilo sustituido con uno o más átomos de halógeno iguales o diferentes, por ejemplo -CH<sub>2</sub>Cl, -CF<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>CCl<sub>3</sub>, y similares.

60 “Heteroarilo” significa radical monovalente monocíclico o bicíclico, de 5 a 12 átomos en el anillo, que tiene al menos un anillo aromático que contiene uno, dos o tres heteroátomos en el anillo seleccionados entre N, O ó S, siendo C los restantes átomos del anillo, entendiéndose que el punto de unión del radical heteroarilo estará sobre el anillo aromático. El anillo heteroarilo está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes, preferiblemente uno o dos sustituyentes, seleccionados, independientemente, entre alquilo, haloalquilo, halo, nitro, ciano, amino, metilendioxilo, fenilo opcionalmente sustituido con Y, Y-cicloalquilo, -Y-heterociclico, -Y-OR', Y-NR'R'', -Y-C(O)-R', -Y-O-(C(O)-R', -Y-S(O)<sub>0-2</sub>-R', -Y-N-SO<sub>2</sub>-R', Y-SO<sub>2</sub>-NR'R'', -Y-N-CO)-N-R'R'', donde Y está ausente o es un grupo alquieno, y R' y R'' son, independientemente entre sí, hidrógeno, alquilo, haloalquilo, hidroxilo, alcoxilo, fenilo opcionalmente sustituido, cicloalquilo, heterociclico. Más específicamente, el término heteroarilo incluye, sin que quede limitado solo a ellos, piridilo, furanilo, tienilo, tiazolilo, isotiazolilo, triazolilo, imidazolilo, isoxazolilo, pirrolilo, pirazolilo, pirimi-

## ES 2 289 140 T3

dinilo, benzofuranilo, tetrahidrobenzo-furanilo, isobenzofuranilo, benzotiazolilo, benzoisotiazolilo, benzotriazolilo, indolilo, isoindolilo, benzoxazolilo, quinolilo, tetrahidroquinolinilo, isoquinolilo, benzimidazolilo, benzisoxazolilo o benzotienilo, imidazo[1,2-a]-piridinilo, imidazo[2,1-b]tiazolilo, y sus derivados.

- 5 “Heterociclico” significa un radical cíclico saturado o no saturado no aromático, de 3 a 8 átomos en el anillo, en que uno o dos átomos del anillo son heteroátomos seleccionados entre N, O, o -S(O)<sub>0-2</sub>, siendo C los restantes átomos del anillo, donde uno o dos átomos de C pueden estar reemplazados opcionalmente por un grupo carbonilo. El anillo heterocíclico puede estar opcionalmente sustituido, con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados, independientemente, entre alquilo, haloalquilo, halo, nitro, ciano, fenilo sustituido opcionalmente con Y, Y-heteroarilo, Y-cicloalquilo, -Y-  
10 OR', -YNR'R'', Y-C(O)-R', Y-S(O)<sub>0-2</sub>-R', -Y-N-SO<sub>2</sub>-R', -Y-SO<sub>2</sub>-NR'R'', -Y-N-C(O)-N-R'R'', donde Y está ausente o un grupo alquileno de C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> y R' y R'' son, cada uno independientemente, hidrógeno, alquilo, haloalquilo, hidroxilo, alcoxilo, fenilo opcionalmente sustituido, heteroarilo o cicloalquilo. Más específicamente, el término heterocíclico es, sin que quede limitado solo a ellos, tetrahidropiranilo, piperidinilo, N-metilpiperidin-3-ilo, piperazinilo, N-metilpirrolidin-3-ilo, 3-pirrolidinilo, morfolinilo, tiomorfolinilo, tiomorfolino-1-óxido, tio-morfolino-1,1-dióxido, pirrolinilo, 15 imidazolinilo, N-metano-sulfonil-piperidin-4-ilo, y sus derivados.

“Grupo saliente” tiene el significado asociado a él en química orgánica, es decir, un átomo o un grupo capaz de ser desplazado por un nucleófilo e incluye grupo halo (tal como cloro, bromo y yodo), alquilsulfoniloxi, arilsulfoniloxi, 20 alquilcarboniloxi (por ejemplo acetoxi), arilcarboniloxi, mesiloxi, tosiloxi, trifluorometanosulfoniloxi, ariloxi (por ejemplo, 2,4-dinitrofenoxi), metoxi, N,O-dimetilhidroxiamino, y similares.

“Fenilo opcionalmente sustituido” significa anillo de fenilo que está opcionalmente sustituido, con uno o más sustituyentes, preferiblemente uno o dos sustituyentes, independientemente seleccionados del grupo que consiste en alquilo, hidroxilo, alcoxilo, haloalquilo, heteroalquilo, halo, nitro, ciano, amino, metilendioxilo, etilendioxilo y acilo.

25 “Isomería” se refiere a compuestos que tienen idéntica fórmula molecular pero que difieren en la naturaleza o en la secuencia de enlaces de sus átomos o en la disposición de sus átomos en el espacio. Los isómeros que difieren en la disposición de sus átomos en el espacio se conocen como “estereoisómeros”. Los estereoisómeros que no son imágenes en el espejo uno de otro se llaman “diastereoisómeros”, y los estereoisómeros que son imágenes en el espejo no superponibles se conocen como “enantiómeros” o algunas veces como isómeros ópticos. Un átomo de carbono unido a cuatro sustituyentes no idénticos se conoce como “centro quiral”.

35 “Isómero quiral” significa un compuesto que tiene un centro quiral. Tiene dos formas enantioméricas de quiralidad opuesta y puede existir como un enantiómero individual o una mezcla de enantiómeros. Una mezcla que contiene cantidades iguales de formas enantioméricas individuales de quiralidad opuesta se denomina “mezcla racémica”. Un compuesto que tiene más de un centro quiral tiene 2<sup>n-1</sup> pares enantioméricos, siendo n es el número de centros quirales. Los compuestos con más de un centro quiral pueden existir como diastereómero individual o como mezcla de diastereómeros, designándose como “mezcla diatereomérica”. Cuando un centro quiral está presente, se puede caracterizar un estereoisómero por la configuración absoluta (R ó S) del centro quiral. La configuración absoluta se refiere a la 40 disposición en el espacio de los sustituyentes unidos al centro quiral. Los sustituyentes unidos al centro quiral que se consideran se clasifican según la Regla de Secuencias de Cahn, Ingold y Prelog (Cahn y col. *Angew. Chem. Edición Inter.* 1966, S, 385; errata 511; Cahn y col. *Angew. Chem.* 1966, 78, 413, Cahn e Ingold, *J. Chem. Soc.* 1951 (Londres), 612; Cahn y col., *Experientia* 1956, 12, 81; Cahn, *J. Chem. Educ.* 1964, 24, 116).

45 “Isómeros geométricos” significa diastereómeros que deben su existencia a la rotación impedida alrededor del dobles enlaces. Estas configuraciones se diferencian en sus nombres por los prefijos *cis* y *trans*, o Z y E, que indican que los grupos están en el mismo lado o en lados opuestos del doble enlace en la molécula de acuerdo con las reglas de Cahn-Ingold-Prelog.

50 “Isómeros atrópicos” se refiere a los isómeros que tienen rotación restringida debida al impedimento de rotación de grandes grupos alrededor de un enlace central.

Los compuestos de la invención pueden existir en forma estereoisómica, por lo que pueden producirse como estereoisómeros individuales o como mezclas.

55 “Excipiente farmacéuticamente aceptable” significa un excipiente que es útil para la preparación de un producto farmacéutico, que es en general seguro, no-tóxico y no es indeseable ni biológicamente ni de ninguna otra forma e incluye excipientes aceptables para uso veterinario así como para uso farmacéutico para humanos. Un “excipiente farmacéuticamente aceptable” como se utiliza en la memoria descriptiva y reivindicaciones incluye uno y más de uno de tales excipientes.

“Sal farmacéuticamente aceptable” de un compuesto significa una sal que es farmacéuticamente aceptable y que posee la actividad farmacológica deseada del compuesto progenitor. Estas sales incluyen:

65 (1) sales de adición de ácido, formadas con ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico y similares; o formadas con ácidos orgánicos tales como ácido acético, ácido propiónico, ácido hexanoico, ácido ciclopentanopropiónico, ácido glicólico, ácido pirúvico, ácido láctico, ácido malónico, ácido succínico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido tartárico,

# ES 2 289 140 T3

ácido cítrico, ácido benzoico, ácido 3-(4-hidroxibenzoil)benzoico, ácido cinámico, ácido mandélico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido 1,2-etanodisulfónico, ácido 2-hidroxietanosulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido 4-clorobencenosulfónico, ácido 2-naftalensulfónico, ácido 4-toluenosulfónico, ácido canfosulfónico, ácido 4-metilbiciclo[2.2.2]-oct-2-eno-1-carboxílico, ácido glucoheptónico, ácido 3-fenilpropiónico, ácido trimetilacético, ácido butilacético terciario, ácido lauril sulfúrico y ácido glucónico, ácido glutámico, ácido hidroxinaftoico, ácido salicílico, ácido esteárico, ácido mucónico, y similares; o

- 5 (2) sales formadas cuando un protón de ácido presente en el compuesto progenitor o es reemplazado por un ión metálico, por ejemplo un ión de metal alcalino, un ión de metal alcalino-térreo, o un ión de aluminio; o  
10 se coordina con una base orgánica tal como etanolamina, dietanolamina, trietanolamina, trometamina, N-metil-glutamina y similares.

Hay que señalar que todas las referencias a sales farmacéuticamente aceptables incluyen formas de adición de disolvente (solvatos) o formas cristalinas (polimorfos) como aquí se definen, de la misma sal de adición de ácido.

15 El término “Formas cristalinas” (o polimorfos) se aplica a estructuras cristalinas en las que puede cristalizar un compuesto en diferentes disposiciones de red cristalina, todas las cuales tienen la misma composición elemental. Formas de cristal diferentes tienen normalmente distintos modelos de difracción de rayos X, espectros de infrarrojo, puntos de fusión, dureza, densidad, forma del cristal, propiedades ópticas y eléctricas, estabilidad y solubilidad. El  
20 disolvente de recristalización, velocidad de cristalización, temperatura de almacenamiento, y otros factores pueden dar lugar a una forma de cristal dominante.

25 “Solvatos” significa formas de adición de disolventes que contienen cantidades estequiométricas o no-estequiométricas de disolvente. Algunos compuestos tienen tendencia a atrapar una relación molar fija de moléculas de disolvente en el estado sólido cristalino, formando de esta manera un solvato. Si el disolvente es agua, el solvato formado es un hidrato, cuando el disolvente es alcohol, el solvato formado es un alcoholato. Los hidratos se forman por la combinación de una o más moléculas de agua con una de las substancias donde el agua retiene su estado molecular como H<sub>2</sub>O, siendo tal combinación capaz de formar uno o más hidratos.

30 Los términos “pro-fármaco” y “profármaco” se utilizan aquí intercambiablemente y se refieren a cualquier compuesto que libera un fármaco progenitor activo según la Fórmula I *in vivo* cuando tal profármaco se administra a un mamífero. Los profármacos de un compuesto de Fórmula I se preparan por modificación de uno o más grupos funcionales presentes en el compuesto de Fórmula I de manera que la(s) modificación(es) pueden escindirse *in vivo* para liberar el compuesto progenitor. Los profármacos incluyen compuestos de Fórmula I en los que un grupo hidroxi, 35 amino, sulfhidrilo, carboxi o carbonilo en un compuesto de Fórmula I se une a un grupo que puede escindirse *in vivo* para regenerar el grupo libre hidroxilo, amino o sulfhidrilo, respectivamente. Entre los ejemplos de profármacos se incluyen, sin que quede limitado solo a ellos, ésteres (por ejemplo derivados de acetato, dialquilamino-acetatos, formiatos, fosfatos, sulfatos y benzoato) y carbamatos (por ejemplo N,N-dimetilaminocarbonilo) de grupos funcionales hidroxilo, grupos éster (por ejemplo ésteres de etilo, ésteres de morfolinoetanol) de grupos funcionales carboxilo, derivados N-acilo (por ejemplo N-acetilo) bases de Mannich en N, bases de Schiff y enaminonas de grupos funcionales amino, oximas, acetales, cetales y ésteres enólicos de cetona y grupos funcionales aldehido en compuestos de Fórmula I, y similares. Véase Bundgaard, H. “Diseño de profármacos” páginas 1-92, Elsevier, Nueva York-Oxford (1965).

45 “Grupo protector” se refiere a una agrupación de átomos que, cuando se unen a un grupo reactivo en una molécula, enmascaran, reducen o evitan que haya reactividad. Ejemplos de grupos protectores se pueden encontrar en T.W.Green y P.G.M. Futs, “Grupos protectores en Química orgánica” (Wiley, 3<sup>a</sup> edición, 1999) y Harrison y Harrison y col., “Compendio de Métodos Orgánicos Sintéticos” volúmenes 1-8 (John Wiley & Sons, 1971-1996). Entre los grupos protectores de amino representativos se incluyen, grupos formilo, acetilo, trifluoroacetilo, bencilo, benciloxicarbonilo (CBZ), terc-butoxicarbonilo (Boc), trimetilsililo (TMS), 2-trimetilsililetanosulfonilo (SES) tritilo y tritilo sustituido, aliloxicarbonilo, 9-fluorenilmeloxicarbonilo (FMOC), nitroveratrilocarbonilo (NVOC) y similares. Grupos protectores de hidroxilo representativos incluyen aquellos en los que el grupo hidroxilo está acilado o alquilado tales como éteres bencílico o trítílico así como éteres alquílicos, éteres tetrahidropiranílicos, éteres trialquilsilílicos y éteres alílicos.

55 “Tratar” o “tratamiento” de una enfermedad incluye (1) prevención de la enfermedad, es decir, hacer que los síntomas clínicos de la enfermedad no se desarrollen en un mamífero que puede estar expuesto o predispuesto a la enfermedad pero que aún no experimenta o presenta los síntomas de la enfermedad; (2) inhibición de la enfermedad, es decir, detención o reducción del desarrollo de la enfermedad o de sus síntomas clínicos, o (3) alivio de la enfermedad, es decir, causar una regresión de la enfermedad o sus síntomas clínicos.

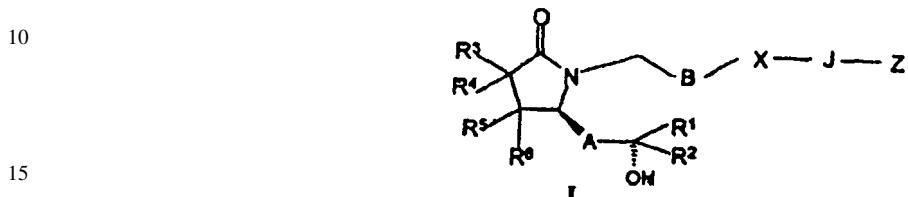
60 Una “cantidad terapéuticamente eficaz” significa una cantidad de compuesto que, cuando se administra a un mamífero para tratamiento de una enfermedad, es suficiente para efectuar tal tratamiento para la enfermedad. La “cantidad terapéuticamente eficaz” variará dependiendo del compuesto, de la enfermedad y su gravedad y la edad, peso, etc. del paciente que se trata.

65 “Análogo de prostaglandina” es un compuesto que no es de origen natural que tiene estructura similar a la prostaglandina.

# ES 2 289 140 T3

“Receptor de prostaglandina” o “receptor de prostanoides” es una proteína de origen natural que se une a prostaglandinas, que al unirse altera la función de una célula. Los receptores de prostaglandina se pueden caracterizar como excitadores o relajantes. Estos receptores incluyen, pero no quedan limitados solo a ellos, EP<sub>1</sub>, EP<sub>2</sub>, EP<sub>3</sub>, EP<sub>4</sub>, DP, FP, IP, TP<sub>1</sub> y TP<sub>2</sub>. Estos receptores se discuten con más detalle en *Pharmacological Review*, por Coleman y col. 1994, volumen 6, No. 2 páginas 205-229.

El nombre y numeración de los compuestos de esta invención se da a continuación:



En términos generales, la nomenclatura utilizada en esta Solicitud se basa en el sistema computerizado del Instituto Bellstein AUTONOMTM v.4,0 para la generación de la nomenclatura sistemática de la IUPAC.

20 Por ejemplo, un compuesto de la Fórmula I donde B es -(CH<sub>2</sub>)-, X es -S-; J es -(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-; Z es -COOH; R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>5</sup> y R<sup>6</sup> son hidrógeno; A es -CH=CH; y R<sup>1</sup> es n-pentilo se designa como ácido 4-[(2-{(2R)-2-[(1E, 3S)-3-hidroxioct-1-enil]-5-oxopirrolidin-1-il}etil)thio]butanoico.

25 Los compuestos en los que Z es -C(O)OR', CH<sub>2</sub>OH ó tetrazol-5-ilo son los preferidos, siendo preferidos en particular aquellos en los que Z es COOH.

Los compuestos en los que B es -(CH<sub>2</sub>)n en los que n es 2 o 3 son particularmente preferidos.

30 Los compuestos en los que X es -O- ó -S- son preferidos.

Los compuestos en los que J es -(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-; -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-; -(CHR<sup>a</sup>)<sub>3</sub> donde una de las R<sup>a</sup> es alquilo inferior, o -CH<sub>2</sub>-CH=CH son preferidos.

35 Los compuestos en los que A es -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>- ó CH=CH son preferidos.

Los compuestos en los que R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>5</sup> y R<sup>6</sup> son hidrógeno son preferidos.

40 Los compuestos en los que R<sup>7</sup> es arilo o heteroarilo son preferidos siendo particularmente preferidos aquellos en que R<sup>7</sup> es fenilo opcionalmente sustituido con alquilo, trifluorometilo, halo, -Y-R<sup>9</sup> ó Y-OR<sup>9</sup>, donde Y es un enlace y R<sup>9</sup> es alquilo de (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), halo o fenilo opcionalmente sustituido.

En un primer modo de realización, B, X, J, Z, A, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>5</sup> y R<sup>6</sup> son como se han definido en el Compendio de la Invención, R<sup>1</sup> es -(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>R<sup>7</sup> y R<sup>7</sup> es alquilo o cicloalquilo de C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>. Preferiblemente, R<sup>7</sup> es metilo y p es 4.

45 En un segundo modo de realización, B, X, J, Z, A, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>5</sup> y R<sup>6</sup> son como se han definido en el Compendio de la Invención y R<sup>1</sup> es -(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>R<sup>7</sup> donde R<sup>7</sup> es arilo, heteroarilo o heterociclico. Preferiblemente, R<sup>7</sup> es un fenilo opcionalmente sustituido, donde al menos un sustituyente se selecciona entre alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, trifluorometilo, halo, -Y-R<sup>9</sup>, -Y-OR<sup>9</sup>, y -Y-C(O)R<sup>9</sup>, donde Y es un enlace o un grupo alquieno de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> y R<sup>9</sup> es alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, arilo, heteroarilo o heterociclico. Más preferiblemente, arilo o heteroarilo, y p es 0. Aún más preferiblemente R<sup>7</sup> es arilo o heteroarilo y p es 1.

55 En un tercer modo de realización, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>5</sup>, R<sup>6</sup>, A, J y Z, son tales como se han definido antes en el Compendio de la Invención, y B es -(CH<sub>2</sub>)<sub>2-3</sub> y X es -NH-, -O- ó -S-. Preferiblemente B es -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>- . Más preferiblemente, dentro de este modo de realización, R<sup>1</sup> es -(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>R<sup>7</sup> donde R<sup>7</sup> es arilo o heteroarilo.

En un quinto modo de realización, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>5</sup> y R<sup>6</sup>, A, B, X y Z son tales como se han definido antes en el Compendio de la Invención, y J es -(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub> ó -(CHR<sup>a</sup>)<sub>3</sub> y R<sup>a</sup> es alquilo inferior.

60 Compuestos representativos de Fórmula I son:

Ácido 4-[(2-{(2R)-2-[(1E-3S)-3-hidroxi-oct-1-enil]-5-oxo-pirrolidin-1-il}etiltio]-butanoico

65 Ácido {4-[2-(R)-(3-hidroxi-oct-1E-enil)-5-oxo-pirrolidin-1-il]butilsulfanil}-acético

Ácido {4-[2(R)-(1E-3S-3-hidroxi-oct-1-enil)-5-oxo-pirrolidin-1-il]butilsulfanil}-acético

# ES 2 289 140 T3

Ácido {4-[{(R)-2-[(E)-3-hidroxi-oct-1-enil]-5-oxo-pirrolidin-1-il]butoxi}acético,  
Ácido (4-{(R)-2-[(E)-3-hidroxi-3-(5-trifluorometil-furan-2-il)-propenil]-5-oxo-pirrolidin-1-il]butilsulfanil}acético  
5 Ácido 4-{2[(R)-2-(S)-(E)-3-hidroxi-oct-1-enil)-5-oxo-pirrolidin-1-il]etanosulfinil}-butírico,  
Ácido 4-12-[(R)-2-(S)-(E)-3-hidroxi-oct-1-enil)-5-oxo-pirrolidin-1-il]etanosulfonil}-butírico,  
10 Ácido {(Z)-4-[(R)-2-((E)-3-hidroxi-oct-1-enil)-5-oxo-pirrolidin-1-il]but-2-eniloxi}acético,  
Ácido {4-[(R)-2-((E)-3-hidroxi-oct-1-enil)-5-oxo-pirrolidin-1-il]butoxi}acético  
15 Ácido (4-{(R)-2-[(S)-(E)-3-hidroxi-4-(3-trifluorometil-fenil)-but-1-enil]-5-oxo-pirrolidin-1-il)butoxi}acético,  
Ácido (4-{(R)-2-[(E)-3-hidroxi-4-(2'-metil-bifenil-3-il)-propenil]-5-oxo-pirrolidin-1-il)butoxi}-acético,  
20 Ácido (4-{(R)-2-((E)-3-(4'-cloro-bifenil-3-il)-3-hidroxi-propenil)-5-oxo-pirrolidin-1-il)butoxi}-acético,  
Ácido (4-{(R)-2-[(E)-3-hidroxi-3-pentil-oct-1-enil)-5-oxo-pirrolidin-1-il]-etilsulfanil-butírico  
25 Ácido 4-{2-[(R)-2-((E)-3-hidroxi-3-metil-oct-1-enil)-5-oxo-pirrolidin-1-il]-etilsulfanil}butírico,  
Ácido 4-[2-((S)-2-{(R)-3-[3-(3-fluoro-fenoxi)-fenil]-3-hidroxi-propil-5-oxo-pirrolidin-1-il]-etilsulfanil}] butírico,  
30 Ácido 4-{2-[(R)-2-((S)-(E)-3-hidroxi-oct-1-enil))-5-oxo-pirrolidin-1-il]-etil sulfanil}-3-metil-butírico,  
Ácido 4-{2-[(R)-2-((S)-(E)-3-hidroxi-oct-1-enil))-5-oxo-pirrolidin-1-il]-etilsulfanil}-2-metil-butírico,  
35 Ácido 4-{2-[(R)-2-((S)-(E)-3-hidroxi-oct-1-enil))-5-oxo-pirrolidin-1-il]-etilsulfanil}-4-metil-butírico,  
Ácido (1-{2-[(R)-2-((S)-(E)-3-hidroxi-oct-1-enil))-5-oxo-pirrolidin-1-il]-etilsulfanil-metil}-ciiclopropil-acético  
Ácido 5-{2-[(R)-2-((S)-(E)-3-hidroxi-oct-1-enil))-5-oxo-pirrolidin-1-il]-etilsulfanil}-acético,  
40 Ácido 3-{2-[(R)-2-((S)-(E)-3-hidroxi-oct-1-enil))-5-oxo-pirrolidin-1-il]-etilsulfanil}-propiónico,  
Ácido 5-{2-[(R)-2-((S)-(E)-3-hidroxi-oct-1-enil))-5-oxo-pirrolidin-1-il]-etilsulfanil}-pentanoico,  
45 Ácido 4-{2-[(R)-2-((S)-(E)-3-hidroxi-oct-1-enil))-5-oxo-pirrolidin-1-il]-etilsulfanil}-butenírico,  
Ácido 4-[2-((S)-2-{(R)-3-[3-(4'-cloro-2'-metilfenil]-fenil]-3-hidroxi-propil}-5-oxo-pirrolidin-1-il)-etilsulfanil]-butírico,  
50 Ácido 4-[2-((S)-2-{(S)-3-[3-(4'-cloro-2'-metilfenil]-fenil]-3-hidroxi-propil}-5-oxo-pirrolidin-1-il)-etilsulfanil]-butírico  
Ácido 4-(2-{(S)-2[(R)-3-(2',4'-difluorobifenil-3-il)-3-hidroxi-propil]-5-oxo-pirrolidin-1-il]-etilsulfanil]-butírico,  
55 Ácido 4-(2-{(S)-2 -[(R)-3-hidroxi-3-(4'-metoxi-2'-metil-bifenil-3-il) propil]-5-oxo-pirrolidin-1-il]-etilsulfanil)-butírico y  
Ácido 3-{3-[2-(3-hidroxi-oct-1-inil)-5-oxo-pirrolidin-1-il]-propilsulfanil}propiónico.  
60

La estructura de los compuestos de Fórmula I incluye isómeros ópticos, diastereómeros, o enantiómeros de la estructura anterior o sales farmacéuticamente aceptables, amidas bio-hidrolizables, ésteres o imidas de ellos. La estequímica preferida mimetiza la de PGE<sub>2</sub> que se da en la naturaleza.

65 Los compuestos de la presente invención pueden existir en formas no-solvatadas así como en formas solvatadas, que incluyen formas hidratadas. En general, las formas solvatadas, que incluyen formas hidratadas, son equivalentes a las formas sin solvatar y ha de entenderse que entran dentro del alcance de la presente invención.

Los compuestos de la Fórmula I son capaces de formar además sales de adición de bases farmacéuticamente aceptables. Todas estas formas están dentro del marco de la presente invención.

Los compuestos de esta invención pueden producirse por los métodos representados en los esquemas de reacción mostrados después. Cualquier especialista en la técnica comprenderá que ciertas modificaciones de los esquemas están dentro del marco de la presente invención como, por ejemplo, ciertas etapas que suponen la utilización de grupos protectores para grupos funcionales que no son compatibles con condiciones de reacción particulares.

Los materiales de partida y reactivos utilizados en la preparación de estos compuestos están o bien disponibles de proveedores comerciales o se preparan por métodos conocidos por los especialistas en estas técnicas. Estos esquemas son simplemente ilustrativos de algunos de los métodos por los que se pueden sintetizar los compuestos de esta invención y se pueden hacer varias modificaciones a estos esquemas que la lectura de la invención puede sugerirle a un especialista.

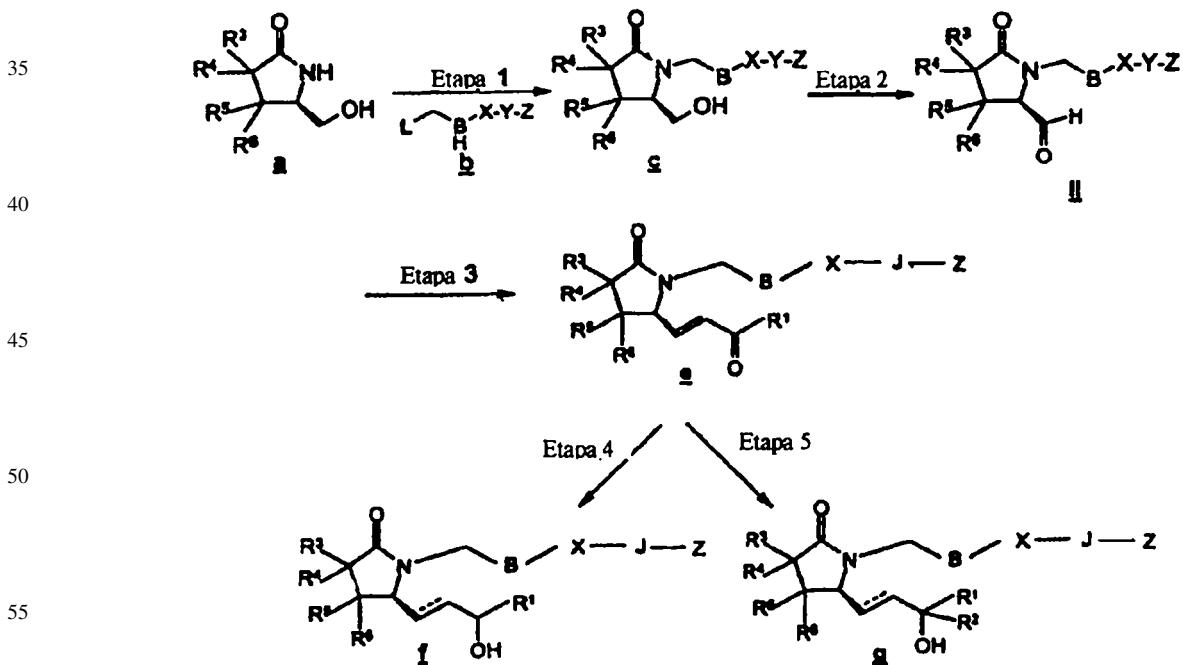
15 A menos que se especifique lo contrario, las reacciones aquí descritas tienen lugar a presión atmosférica a temperaturas que varían de aproximadamente -78°C a aproximadamente 150°C, más preferiblemente de aproximadamente 0°C a aproximadamente 125°C y lo más preferible a aproximadamente la temperatura ambiente, por ejemplo, aproximadamente a 20°C.

20 Esquema A

El Esquema A describe métodos para preparar compuestos de la Fórmula general I.

Los compuestos de la fórmula a (Esquema A) son conocidos en la técnica. Por ejemplo, la (R)-5-(hidroximetil)-2-pirrolidinona, en la que  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^5$  y  $R^6$  son hidrógeno, es un producto comercial y su preparación está descrita por S. Saijo y col. en *Chem. Pharm. Bull.*, 1980, 28 1449-1458; (R)-3,3-dimetil-5-(hidroximetil)-2-pirrolidinona, donde  $R^3$  y  $R^4$  son metilo y  $R^5$  y  $R^6$  son hidrógeno, se puede preparar según Y. Nakagawa y col. *Tetrahedron*, 1998, 54, 10295-10307, y la 4,4-dimetil-5-(hidroximetil)-2-pirrolidinona, donde  $R^3$  y  $R^4$  son hidrógeno y  $R^5$  y  $R^6$  son metilo se puede preparar según R.L. Mackman y col. describen en *J. Chem. Soc., Perkin Trans.* 1997, 2111-2122.

## Esquema A



Como etapa inicial, se protege el grupo hidroxilo del compuesto a por métodos conocidos en la técnica y que se han descrito aquí antes. Métodos de protección de hidroxilo en a como acetales están descritos por S Saijo y col. en *Chem. Pharm. Bull.* 1980, 28, 1449-1458. Grupos protectores alternativos son éteres silílicos. Un éter silílico se puede preparar con un halotrialquilsilano tal como, por ejemplo clorotriisopropilsilano, clorodimetilfenilsilano, o t-butilclorodimetil silano, en un disolvente orgánico inerte tal como, sin que quede limitado solo a ellos, diclorometano, tetrahidrofurano, ó N,N-dimetilformamida con una base débil tal como imidazol, trietilamina o piridina.

La 5-hidroximetil-2-pirrolidinona protegida en el O se disuelve en un disolvente polar tal como tetrahidrofurano, N-metil-2-pirrolidinona, o N,N-dimetilformamida, y se trata con una base tal como hidruro sódico, hexametidisilazida de potasio, o terc-butóxido de potasio para producir un anión, y se hace reaccionar con un derivado de alquilo de la

# ES 2 289 140 T3

fórmula general b, donde L es grupo saliente, preferiblemente un halógeno, y Z es un grupo éster como se ha definido antes. La desprotección del grupo hidroxilo protegido en un disolvente alcohol, tal como metanol, etanol o 2-propanol y una cantidad catalítica de un ácido tal como ácido trifluoroacético, ácido *para*-toluensulfónico, o ácido clorhídrico, conduce al compuesto c.

5 El compuesto c se oxida con un reactivo oxidante que detendrá la transformación en el aldehido, para dar un aldehido de la estructura general d. Los agentes oxidantes que pueden utilizarse son, por ejemplo, dimetilsulfóxido-anhidrido trifluoroacético, a continuación la secuencia de trietilamina, hipoclorito de sodio, con radical catalítico 2,2,6,6-tetrametil-1-piperidinoloxi, 1,1,1-triacetoxi-1,1-dihidro-1,2-beciodoxol-3(1H)-ona, N-óxido de N-metil-morfolina con per-rutenato de tetrapropilamonio catalítico, o clorocromato de piridinio en la presencia de un soporte inerte tal como Celite<sup>TM</sup>, en un disolvente orgánico inerte tal como 1,2-dicloroetano, diclorometano o benceno.

10 15 La reacción del compuesto d con un  $\beta$ -cetofosfonato, de fórmula general  $R^1-C(O)-CH_2PO(OCH_3)_2$  (k, véase esquema C para su preparación) en presencia de una base tal como, por ejemplo, hidruro de sodio, 1-butóxido de potasio, hexametildisilazida de potasio, o cloruro de litio con una amina terciaria, en un disolvente éter inerte tal como tetrahidrofurano, 1,2-dimetoxietano o éter 1-butilmeflico, conduce a cetona de la fórmula general e.

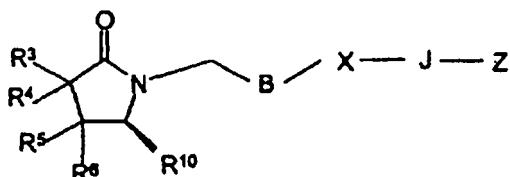
20 25 En la etapa 4, la reducción de la cetona e con un hidruro, por ejemplo borohidruro de sodio en un disolvente tal como diclorometano, tolueno, etanol o tetrahidrofurano, conduce a una mezcla diastereomérica de alcoholes de fórmula f donde  $R^2$  es hidrógeno. Si se desea la formación preferencial de uno de los diastereómeros, tal como isómero S-hidroxilo cuando  $R^1$  es n-alquilo se puede emplear la combinación estequiométrica de hidruro de litio y aluminio-ethanol-(S)-(-)-binafotol como describen R. Noyori y col. en *J. Am. Chem. Soc.* 1984, 106, 6717-6725; o si se desea el isómero R-hidroxilo, se utiliza la combinación de cantidades catalíticas de (R)-2-metil-“CBS”-oxazaborolidina con borano-sulfuro de dimetilo estequiométricas como describe E. J. Corey y col. *J. Am. Chem. Soc.* 1987, 109, 7925-7926; o cantidades estequiométricas de (R)-3-pinanil-9-borabiciclo[3.3.1]nonano como describe M.M. Midland y col., *J. Am. Chem. Soc.* 1980, 102, 867-869. La hidrogenación catalítica del doble enlace con Ni Raney ó Pd sobre carbono conduce a un compuesto de la fórmula general f, en el que la cadena lateral es saturada.

30 Alternativamente, la reacción del compuesto e en la etapa 5 con un metal o con haluro de magnesio de la fórmula  $R^2M$ , más preferiblemente un reactivo de Grignard de fórmula general  $R^2MgBr$ , donde M es un metal y  $R^2$  es tal como se ha definido antes, conduce al compuesto g. Si se desea el compuesto con una cadena lateral saturada, el doble enlace se puede reducir por el método antes descrito.

35 40 El grupo éster Z se hidroliza, si se desea, a  $-C(O)OH$  por hidrólisis utilizando procedimientos muy conocidos por cualquier especialista en la técnica, por ejemplo, adición de una base tal como hidróxido de litio, sodio o potasio, o un ácido tal como ácido sulfúrico o ácido clorhídrico en un disolvente protílico o disolvente éter que contiene agua, o empleando una Lipasa tipo VII en tampón fosfato acuoso 0,05M a pH 6,8, como describe C. Luthy y col. *J. Chem. Soc.* 1978, 100, 6211-6217.

45 Los derivados alquílicos b para preparar los compuestos en los que Z es distinto de  $C(O)OR'$  se pueden preparar por los procedimientos conocidos en la técnica. Por ejemplo, se puede hacer reaccionar un derivado de alquilo de Fórmula b y convertirlo subsiguentemente a Z como tetrazol-5-ilo como se describe por W. S. Marshall y col. en *J. Med. Chem.*, 1987, 30, 682-689.

50 55 Otro modo de realización de la invención es el compuesto intermedio de fórmula II



II

donde:

60 B, X, J,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^5$  y  $R^6$  son tales como se han definido antes

Z es  $C(O)OR$  donde R es hidrógeno o alquilo de  $C_1-C_6$ ; y

65  $R^{10}$  es  $-CH_2OH$ ,  $-CHO$ ,  $-CH=CH-C(O)R^1$

El compuesto de fórmula II corresponde a la fórmula general de los compuestos intermedios del Esquema A.

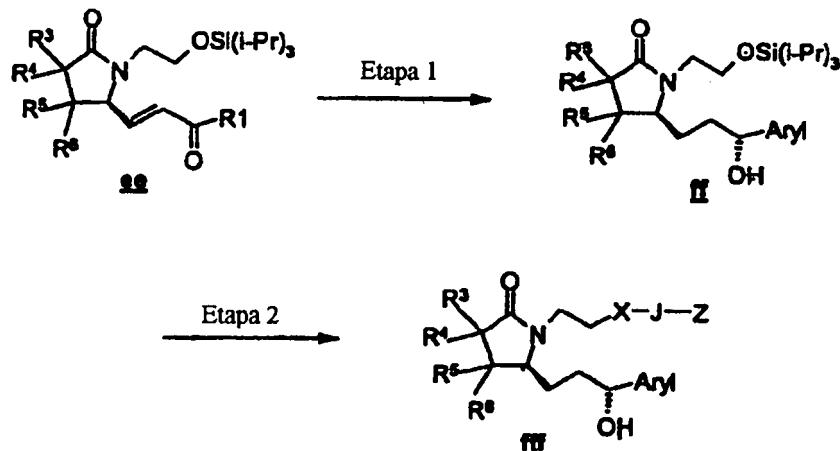
## Esquema B

El Esquema B describe un método general para preparar compuestos de Fórmula I donde B es  $-CH_2-$  donde  $R^1$  es arilo y  $R^2$  es H.

5

Esquema B

10



20

25

30 Los compuestos de la fórmula ee se preparan según el Esquema A por utilización de un haluro de alquilo, tal como éter trialquilsilílico de  $\beta$ -bromo etanol, en la etapa de N-alquilación y utilización de  $\beta$ -cetofosfonato del compuesto k en la etapa de olefinización. Los compuestos de la fórmula general ff se preparan por reducción inicial del doble enlace en el compuesto ee por tratamiento con una fuente de hidruro, tal como  $[CuH(Ph_3P)_6$  o (sec-butil)<sub>3</sub>borohidruro de litio o potasio, o por exposición a gas hidrógeno con una superficie metálica presente, tal como óxido de platino o paladio sobre carbono. Los alcoholes diastereoméricos de la fórmula general ff se obtienen con un hidruro, por ejemplo borohidruro de sodio en un disolvente tal como diclorometano, tolueno, etanol, o tetrahidrofurano. Si se desea la formación preferencial de uno de los 15 diastereómeros, como por ejemplo, si se desea preparar el isómero R-hidroxilo cuando  $R^1$  es arilo, se utiliza la combinación estequiométrica de hidruro de litio y aluminio - etanol - (R)-binaftol como describen R. Noyori y col. en *J. Am. Chem. Soc.* 1984, 106, 6717-6725. Pero si se desea preparar el isómero S-hidroxílico, se utiliza la combinación de cantidades catalíticas de (S)-2-metil-“CBS”-oxazaborolidina con cantidades estequiométricas de borano - sulfuro de dimetilo como describen E.J. Corey y col. en *J. Am. Chem. Soc.* 1987, 109, 7925-7926, o cantidades estequiométricas de S)-3-pinalil-9-boraciclo[3.3.1]nonano como describen M.M. Midland y col., *J. Am. Chem. Soc.* 1980, 102, 867-869

45 La desprotección del grupo hidroxilo en el compuesto ff se realiza en las condiciones convencionales citadas antes, tal como hidróxido de sodio en metanol acuoso o fluoruro de tetrabutilamonio en tetrahidrofurano. El dialcohol resultante se puede derivar selectivamente en el grupo hidroxilo primario con cloruro de bencenosulfonilo o cloruro de metanosulfonilo en la presencia de una trialaquilamina tal como trietilamina a -25 a 0°C para obtener el correspondiente monosulfonato.

50 El anterior monosulfonato se hace reaccionar entonces con el nucleófilo litio o potasio-X-J-Z, tal como tiolato de potasio generado por el tratamiento de metóxido de potasio con  $\gamma$ -tiobutirolactona, en un disolvente éter inerte tal como tetrahidrofurano o 1,2-dimetoxietano, para producir compuesto fff donde X es S. El grupo éster Z se hidroliza, si se desea, al  $-C(O)OH$  por hidrólisis utilizando el procedimiento antes descrito.

55

60

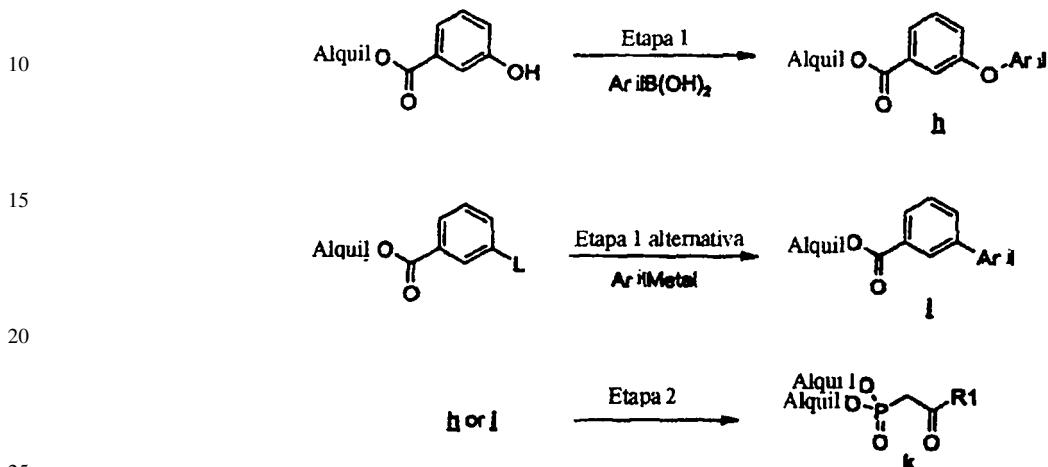
65

## Esquema C

El Esquema C describe un método general de preparación de un fosfonato de fórmula k que se utiliza a su vez en el Esquema A anterior para introducir la cadena lateral inferior donde R1 es arilo.

5

Esquema C



10

15

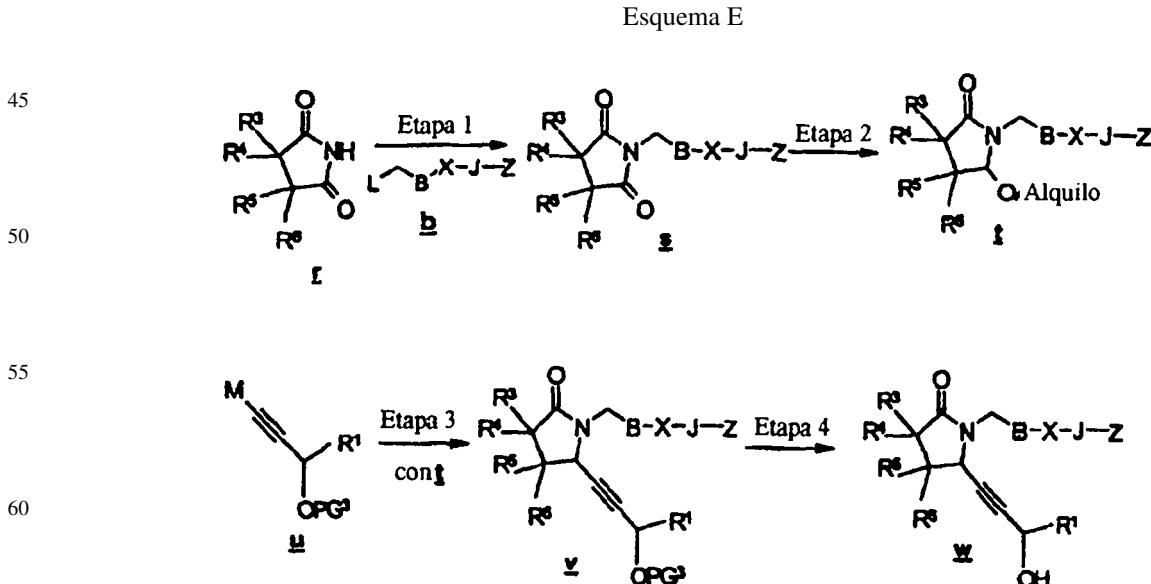
20

25

Los derivados de ácido benzoico, como materiales de partida, en los que L es un grupo saliente como se ha definido antes, o bien están comercialmente disponibles o cualquier especialista en la técnica puede sintetizarlos y se transforman a los compuestos h e i, respectivamente. Las condiciones para la preparación de compuestos de fórmula h están descritos por D. A. Evans y col. en *Tetrahedron Letters* 1998, 39, 2937. Los métodos para la preparación de compuestos de fórmula k están descritos por A.M. Echavarren y J. K. Stille en *J. Am. Chem. Soc.* 1987, 109, 5478-5486, N. Miyaura y a. Suzuki, *Chem. Rev.* 1995, 95, 2457-2483, y A. F. Littke y col. *J. Am. Chem. Soc.* 2000, 122, 4020-4028. Los compuestos h e i se convierten al compuesto k por exposición a un fosfonato de dialquил metilo, que se trata inicialmente con una base tal como n-butillitio o diisopropilamida de litio en un disolvente éter inerte tal como tetrahidrofurano, o éter t-butilmefílico.

## Esquema E

El Esquema E describe un método de preparación de un compuesto de fórmula I donde A es un triple enlace carbono-carbono



40

50

55

60

65

En general, la alquilación de r con un haluro de alquilo de fórmula general b, donde L, B y Z son tales como se han definido antes, en un disolvente aprótico polar tal como N-metil-2-pirrolidinona, N,N-dimetil-formamida, tetrahidrofurano, o acetonitrilo, en la presencia de una base débil tal como metóxido de sodio, carbonato de potasio, o t-

## ES 2 289 140 T3

butóxido de potasio, produce una imida cíclica de fórmula s. Las alcoxilactamas de fórmula general t se preparan por reducción de un compuesto s con borohidruro de litio o sodio en un disolvente alcohol y en la presencia de un ácido tal como ácido cítrico, ácido trifluoroacético, ácido clorhídrico, o ácido bromhídrico, como describen J. C. Hubert y col, en *Tetrahedron* 1975, 31, 1437-1441.

5 La reacción del compuesto t con un reactivo derivado organoestannico alquinílico de fórmula general u, donde PG<sup>3</sup> es un grupo protector tal como, por ejemplo, un éter silílico, y M es un metal, típicamente en presencia de un ácido de Lewis tal como un haluro de magnesio, trihaluro de boro, sal de titanio(IV), o sal de estaño(IV), seguido de desprotección, conduce al compuesto w.

10 El compuesto w en el que Z es -C(O)OH se puede preparar a partir de los ésteres por hidrólisis como se describe en el esquema A.

15 La presente invención se refiere también a una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la presente invención en mezcla con al menos un vehículo diluyente o excipiente adecuados.

20 Los compuestos de la presente invención se pueden utilizar para la preparación de un medicamento. Especialmente en una preparación para enfermedad asociada con trastornos óseos y más preferiblemente para medicamento para tratamiento de osteoporosis.

25 Los compuestos de la presente invención son agonistas de prostaglandina EP<sub>4</sub> selectivos y se pueden utilizar para tratar varios estados de enfermedad asociados con enfermedades mediadas por receptor de prostaglandina EP<sub>4</sub>, en particular para estados de enfermedad asociados con trastornos de huesos, caracterizados por una baja masa ósea y deterioro del tejido óseo, con el consiguiente aumento de la fragilidad de los huesos y susceptibilidad de fractura, especialmente los que requieren un incremento significativo de la masa ósea, volumen del hueso, o resistencia del hueso. Los estados asociados a una baja masa del hueso se refieren a un estado en que el nivel de masa ósea está por debajo de lo normal específico para la edad. La osteoporosis idiopática de la infancia y la osteoporosis primaria se incluyen también. En el tratamiento de la osteoporosis se incluye también la prevención o atenuación de complicaciones a largo plazo tales como curvatura de la espina dorsal, pérdida de altura, cirugía prostética, curado de fracturas y prevención de disfunción de la próstata. Los especialistas comprenderán que el término masa ósea se refiere en realidad a masa del hueso por área unidad que se conoce a veces como densidad mineral de los huesos. Se ha descubierto que los análogos 8-aza-11-desoxi prostaglandina de la presente invención son útiles para el tratamiento de trastornos de los huesos.

35 Otros usos de estos compuestos incluyen la prevención y/o tratamiento de alergia, abcesos alveolares, enfermedad de Alzheimer, esclerosis lateral amiotrófica (ALS), artritis, asma, atopía, bronquitis, quemaduras, cáncer, enfermedades cardiovasculares, enfermedad de Crohn, enfermedades respiratorias obstructivas crónicas, fallo congestivo del corazón, gingivitis, glomerulonefritis, hepatitis, lesión hepática, hepatitis aguda, hipertensión, hipercitocinemia, trastornos inmunes, enfermedad intestinal inflamatoria, enfermedad de Kawasaki, enfermedad del hígado, fallo pulmonar, 40 síndrome de activación de macrófagos, fallo multiorgánico, esclerosis múltiple, isquemia miocárdica, nefritis, neuronegeneración, muerte neuronal, rechazo de transplante de órganos, periodontitis, agregación de plaquetas, lesión pulmonar, fibrosis pulmonar, enfisema pulmonar, fallo renal, insuficiencia renal, trastornos renales, enfermedad respiratoria, septicemia, sepsis, shock, trastornos del sueño y de agregación de plaquetas, enfermedad de Still, granuloma sistémico, trombosis, colitis ulcerativa y uremia, o como promotor de osteogénesis.

45 Los compuestos de Fórmula I se unen y actúan sobre receptores EP<sub>4</sub> que es un subtipo de receptor de PGE<sub>2</sub>. Los efectos de los compuestos de la presente invención se pueden medir con el ensayo de unión empleando células que expresan subtipos de receptores de prostanoide como se describe con más detalle en el Ejemplo 10. La actividad de unión competitiva de estos compuestos a la diana deseada se puede medir como se describe en el Ejemplo 11. Los compuestos de esta invención pueden evaluarse por su efecto sobre la densidad de la masa ósea de acuerdo con los procedimientos de Gunness-Hey y Hock, *Metab. Bone Dis.* 5, 177-181 (1984) como se describe con más detalle en el Ejemplo 12.

55 En general, los compuestos de esta invención se administrarán en una cantidad terapéuticamente eficaz por cualquiera de los modos de administración aceptados para agentes que tienen utilidades semejantes. La cantidad real de compuesto de esta invención, es decir, el ingrediente activo, dependerá de numerosos factores tales como la gravedad de la enfermedad que se va a tratar, la edad y salud relativa del paciente, la potencia del compuesto utilizado, la vía y forma de administración y otros factores.

60 Las cantidades terapéuticamente eficaces de compuestos de la Fórmula I pueden variar desde aproximadamente 0,0005 mg a 10 mg por kilogramo de peso corporal del paciente por día, preferiblemente de aproximadamente 0,001-1 mg/kg/día. Según esto, para la administración a una persona de 70 kg, el intervalo de dosificación será preferiblemente de aproximadamente 0,1 mg a 70 mg por día.

65 En general, los compuestos de esta invención se administrarán como composiciones farmacéuticas por cualquiera de las siguientes vías: oral, sistémica (por ejemplo, transdérmica, intranasal o por suppositorio), o parenteral (por ejemplo administración intramuscular, intravenosa o subcutánea). La manera preferida de administración es la oral utilizando un régimen de dosificación diaria conveniente, que puede ajustarse según el grado del trastorno. Las com-

posiciones pueden tomarse en forma de tabletas, píldoras, cápsulas, preparaciones semisólidas, polvos, formulaciones de liberación sostenida, soluciones, suspensiones, elixires, aerosoles, o cualquier otra de las composiciones adecuadas.

La elección de la formulación depende de varios factores tales como el modo de administración del fármaco (por ejemplo, para administración oral, las preferidas son formulaciones en forma de tabletas, píldoras o cápsulas) y la biodisponibilidad de la sustancia fármaco. Recientemente, las formulaciones farmacéuticas han sido desarrolladas especialmente para fármacos que muestran pobre biodisponibilidad basándose en el principio de que la biodisponibilidad se puede incrementar al aumentar el área de la superficie, es decir, reduciendo el tamaño de partícula. Por ejemplo, la Patente estadounidense No. 4.107.288 describe una formulación farmacéutica que tiene partículas en el intervalo de tamaños de 10 a 1.000 nm en que el material activo va soportado sobre una matriz reticulada de macromoléculas. La Patente estadounidense No. 5.145.684 describe la producción de una formulación farmacéutica en que la substancia fármaco se pulveriza a nanopartículas (tamaño medio de partícula de 400 nm) en la presencia de un nodificador de superficie y se dispersa entonces en un medio líquido para dar una formulación farmacéutica que presenta una biodisponibilidad notablemente alta.

Las composiciones están formadas por lo general por un compuesto de Fórmula I en combinación con al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable. Los excipientes aceptables son no-tóxicos, favorecen la administración y no afectan adversamente al beneficio terapéutico del compuesto de Fórmula I. Este excipiente puede estar en cualquier forma sólida, líquida o semisólida, o, en el caso de composición en aerosol, en forma de excipiente gaseoso que es asequible en general para cualquier especialista en la técnica.

Los excipientes farmacéuticos sólidos incluyen almidón, celulosa, talco, glucosa, lactosa, sacarosa, gelatina, mazta, arroz, harina, tiza, gel de sílice, estearato de magnesio, estearato de sodio, monoestearato de glicerina, cloruro de sodio, leche desnatada en polvo y similares. Los excipientes líquidos y semisólidos se pueden seleccionar entre glicerina, propilen glicol, agua, etanol y varios aceites, incluyendo los de petróleo, los de origen animal, origen vegetal o sintético, por ejemplo aceite de cacahuate, aceite de soja, aceite mineral, aceite de sésamo, etc. Los vehículos líquidos preferidos, en particular para soluciones inyectables, incluyen agua, solución salina, dextrosa acuosa, y glicoles.

Se pueden utilizar gases comprimidos para dispersar un compuesto de esta invención en forma de aerosol. Los gases inertes adecuados para este propósito son nitrógeno, dióxido de carbono, etc.

Otros excipientes farmacéuticos y sus formulaciones están descritos en *Remington's Pharmaceutical Sciences*, editado por E. W. Martin (Mack Publishing Company), ed. 18, 1990).

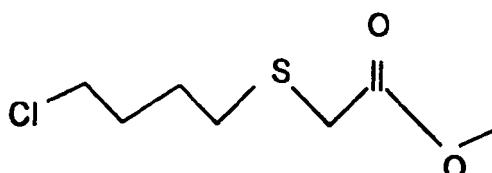
El nivel de compuesto en una formulación puede variar dentro del intervalo completo de los empleados por los especialistas en esta área. Típicamente, la formulación contendrá, en porcentaje en peso (% en p.), de aproximadamente 0,01-99,99% en p. de un compuesto de Fórmula I basado en la formulación total, siendo el resto uno o más excipientes farmacéuticos adecuados. Preferiblemente, el compuesto está presente a un nivel de aproximadamente 1-80% en peso. En el Ejemplo 8 se describen formulaciones farmacéuticas representativas que contienen un compuesto de Fórmula I.

## Ejemplos

Las siguientes preparaciones y ejemplos se dan para que los especialistas comprendan más claramente y puedan poner en práctica la presente invención. No deberán considerarse como limitativos del alcance de la invención, sino únicamente como ilustrativos y representativos de ella.

### Preparación 1

*Éster metílico de ácido [(4-clorobutil) tio]acético*

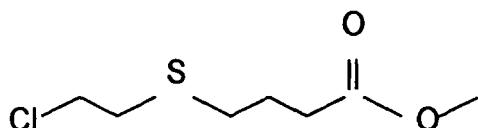


60 Se trató una solución de tioglicolato de metilo (10,0 ml, 113 mmoles) en tetrahidrofurano (200 ml) a -78°C bajo atmósfera de argón, gota a gota, con n-butillitio (solución 2,5 M en hexanos, 45 ml, 113 mmoles). Tras 1 hora a -78°C, se trató rápidamente la solución turbia con 1-bromo-4-clorobutano (13,0 ml, 113 mmoles) y se dejó alcanzar la temperatura ambiente durante toda la noche. Se vertió en agua y hexanos, se lavó con solución acuosa fría de hidróxido de sodio (0,1M) seguido de cloruro de amonio acuoso saturado y la capa orgánica se almacenó sobre sulfato de sodio anhidro. Se separaron las sustancias volátiles y el residuo se purificó por cromatografía y se eluyó con hexano:acetato de etilo 8:1 para dar éster metílico de ácido [(4-clorobutil) tio]acético (10,7 g, 54,5 mmoles como líquido incoloro: EIMS m/z 198 (M+ con  $^{37}\text{Cl}$ ), 196 (M+ con  $^{35}\text{Cl}$ )).

## Preparación 2

*4-[(2-cloroetil)thio]butanoato de metilo*

5



10

Se trató una solución de ácido 4-mercaptopbutírico (3,85 g, 20 mmoles) en isopropanol (70 ml) a 0°C con hidruro de sodio en cuatro porciones (95%, 1,56 g en total, 65 mmoles) a lo largo de 20 minutos y se dejó llegar a temperatura ambiente. Se añadió rápidamente 1-bromo-2-cloroetano (11 ml, 128 mmoles) a la suspensión resultante agitándose vigorosamente durante 2 días, se separaron entonces las sustancias volátiles y el residuo se repartió entre ácido acético acuoso al 5% y acetato de etilo. Se lavaron con salmuera los extractos orgánicos combinados y se almacenaron sobre sulfato de sodio. El extracto se filtró y se separaron las substancias volátiles al vacío. El residuo se disolvió en metanol (60 ml) y se enfrió a 0° bajo atmósfera de argón. Se añadió, gota a gota, cloruro de tionilo (5 ml, 69 mmoles) y se agitó la solución a temperatura ambiente. Al cabo de 2-3 horas, se separaron las sustancias volátiles, se añadió tolueno, y se separaron de nuevo las sustancias volátiles. La cromatografía condujo a 2,93 g (14 mmoles) de 4-[(2-cloroethyl)thio]butanoato de metilo como aceite incoloro: MS (NH<sub>3</sub>) m/z 199 (M+1+ con <sup>37</sup>Cl), 197 (M+1+ con <sup>35</sup>Cl).

15

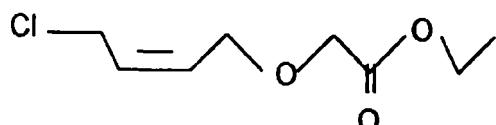
20

## Preparación 3

25

*Éster etílico de ácido Z-4-cloro-but-2-eniloxi)-acético*

30



35

A una solución de hidruro de sodio (1,17 g, 48 mmoles) en 50 ml de DMF a 0°C bajo nitrógeno, se añadió glicolato de etilo (4,5 ml, 48 mmoles), y la reacción se agitó durante 1 hora. Se añadió rápidamente Z-1,4-dicloro-2-buteno (7,6 ml, 72 mmoles), y se dejó llegar la reacción a temperatura ambiente y se agitó durante toda la noche. Después de verter en agua, se extrajo la mezcla con éter dietílico, se secó y se concentró. Se purificó el producto resultante mediante cromatografía para dar 2,7 g de éster etílico de ácido Z-4-cloro-but-2-eniloxi)-acético como aceite bruto.

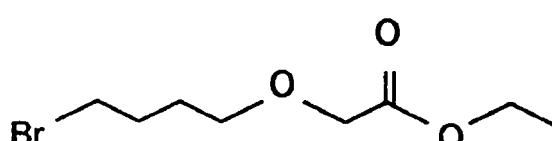
40

## Preparación 4

45

*Éster etílico de ácido (4-bromo-butoxi)acético*

50



55

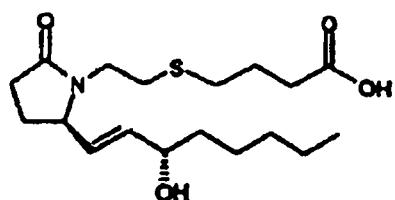
A una solución de hidruro de sodio en 40 ml de DMF agitada a 0°C se añadió lentamente glicolato de etilo (5 g, 48 mmoles). Al cabo de 1 hora se añadió 1,4-dibromobutano (8,6 ml, 72 mmoles), y la mezcla se agitó durante 2 horas más. Se dejó llegar la reacción a temperatura ambiente durante 3 horas adicionales. Se añadió una solución de bicarbonato de sodio, y la capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se concentró y el residuo se purificó por cromatografía para dar un aceite incoloro.

60

## Ejemplo 1

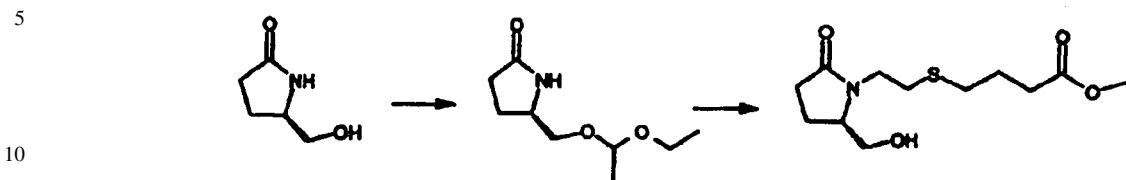
*Ácido 4-[(2-(2R)2-[(1E,3S)-3-hidroxioct-1-enil]-5-oxipirrolidin-1il)etil)thio]-butanoico*

65



## Etapa 1

*4-({2-[{(5R)-5-(hidroximetil)-2-oxopirrolidin-1il}etil}tio]butanoato de metilo}*

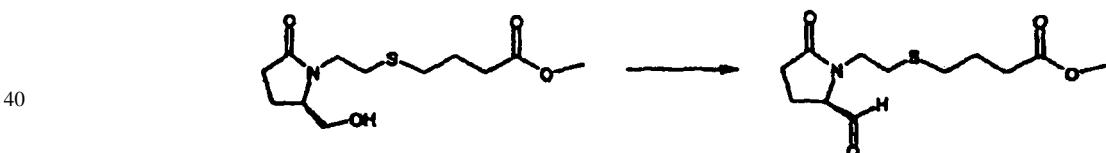


A una solución de (5R)-5-hidroximethylpirrolidin-2-ona (Aldrich, 8,86 g, 77 mmol) en 70 ml en cloroformo a temperatura ambiente, bajo atmósfera de argón, se añadió éter etil vinílico (10,4 ml, 108 mmoles) y ácido trifluoroacético anhidro catalítico (0,2 ml). Despues de agitar durante 3 horas, se repartió la reacción entre cloruro de metileno (150 ml) y solución acuosa de bicarbonato de sodio (150 ml) y se separaron las fases. La fase orgánica se secó ( $K_2CO_3$ ) y se filtró. El filtrado se evaporó a presión reducida para dar 14,7 g de (5R)-5-(1-etoxietoximetil)pirrolidin-2-ona.

20 A una solución de (5R)-5-(1-etoxietoximetil)pirrolidin-2-ona (3,31 g, 17,7 mmoles) en 50 ml de dimetilformamida anhidra a 0°C, bajo atmósfera de argón, se añadió yoduro de potasio (3,22 g, 19,4 mmoles) e hidruro de sodio (95%, 0,44 g, 17,7 mmoles). Se retiró el baño de refrigeración y se agitó la reacción durante 30 minutos. Se añadió una solución de 4-[(2-cloroethyl)-tio]butanoato de metilo (3,46 g, 17,7 mmoles en 5 ml, dimetilformida anhidra y la solución de reacción se calentó a 50°C y se agitó durante 490 horas. Se separaron las substancias volátiles por simple destilación al vacío. Se añadieron entonces acetato de etilo (150 ml) y solución acuosa de cloruro de amonio (50 ml) al residuo bruto. Al separarse en dos fases, se secó la solución de acetato de etilo ( $Na_2SO_4$  anhidro) y se evaporó a presión reducida. A una solución del éster protegido (17,7 milímoles) en 70 ml de metanol anhidro, a temperatura ambiente bajo atmósfera de argón, se añadió monohidrato de ácido p-toluensulfónico (0,34 g, 1,8 mmoles). Despues de agitar durante 5 horas, se añadió solución acuosa de bicarbonato de sodio (50 ml) y la mezcla de reacción se evaporó a presión reducida. Se añadió etanol (50 ml) y la solución se evaporó de nuevo. El material resultante se purificó mediante cromatografía en columna para dar 4-((2-[(5R)-5-(hidroximetil)-2-oxo-pirrolidin-1il]etil)tio)-butanoato de metilo como un aceite de color tostado (0,17 g, espectro de masas (MS)  $M^+=275$ ).

## Etapa 2

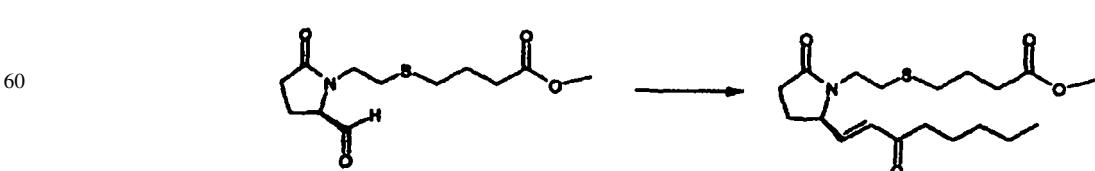
35 *4-({2-[{(2R)-2-formil-5-oxopirrolidin-1il}etil}tio]butanoato de metilo.*



45 Se enfrió una solución de dimetilsulfóxido anhidro (0,21 ml, 2,7 mmoles) en 5 ml de cloruro de metileno, bajo atmósfera de argón, a -70°C y se añadió gota a gota anhidrido trifluoroacético (0,17 ml, 1,2 mmoles) en 1 ml de cloruro de metileno. Se agitó la reacción durante 15 minutos manteniendo la temperatura y se añadió entonces 4-((2-[(5R)-5-(hidroximetil)-2-oxopirrolidin-1il]etil)tio)-butanoato de metilo (0,15 g, 0,55 mmoles) en 2 ml de cloruro de metileno. Se agitó la solución y se mantuvo a -70°C durante 20 minutos seguido de adición de trietilamina (0,27 ml, 1,9 mmoles). Se dejó llegar la reacción a temperatura ambiente, se agitó durante 30 minutos y después se apagó con la adición de 50 solución acuosa de ácido fosfórico (2%, 50 ml) y cloruro de metileno (25 ml). Se separaron las fases de reacción y las capas orgánicas combinadas se secaron ( $Na_2SO_4$ ) y se evaporaron a presión reducida para dar 4-((2-[(2R)-2-formil-5-oxopirrolidin-1il]etil)tio)-butanoato de metilo que se empleó en la siguiente etapa.

## Etapa 3

55 *4-[(2-[(5R)-2-oxo-5-[(1E)-3-oxooct-1-etyl]pirrolidin-1il]etil)tio]butanoato de metilo*

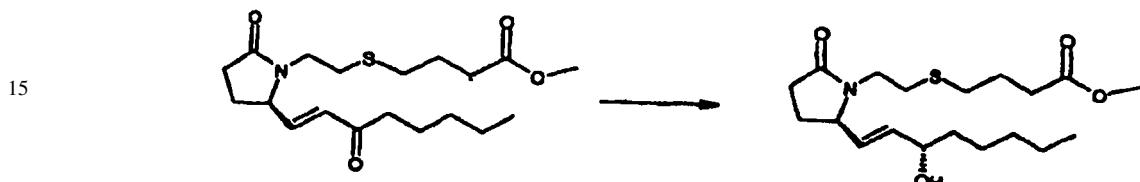


65 A una solución de hidruro de sodio (95%, 14 mg, 0,58 mmoles) en 3 ml de 1,2-dimetoxietano anhidro a 0°C, bajo atmósfera de argón, se añadió 2-oxoheptilfosfonato de dimetilo (ACROS, 0,13 ml, 0,61 mmoles). Se retiró el baño refrigerante y la reacción se agitó durante 2 horas. Al cabo de este período de tiempo, se enfrió la mezcla a 0°C y se

añadió una solución de 4-((2R)-2-formil-5-oxopirrolidin-1-il)etilo]butanoato de metilo. Se dejó llegar la reacción a temperatura ambiente, se agitó durante 2 horas y luego se apagó con solución acuosa saturada de cloruro de amonio. Se añadió entonces acetato de etilo (50 ml) y la mezcla se repartió entre las dos fases. Se secó la solución orgánica (salmuera,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), se evaporó a presión reducida y se purificó por cromatografía en columna ( $\text{SiO}_2$ , EtOAc/hexano 1/1) para dar 4-[(2-(5R)-2-oxo-5-[(1E)-3-oxooct-1-enil]pirrolidin-1-il)etilo]butanoato de metilo como un aceite. Este material se empleó directamente en la siguiente etapa.

## Etapa 4

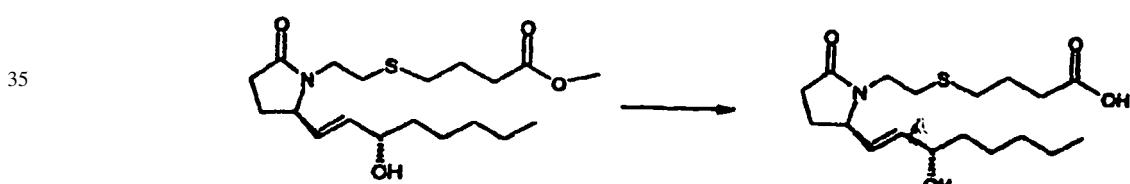
10      *Éster metílico de ácido 4-[(2-(2R)-2-[(1E,3S)-3-hidroxiocto-1-enil]-5-oxo-pirrolidin-1-il)-etiltio]butanoico*



20      Se añadió, gota a gota, una solución de 4-[(2-(5R)-2-oxo-S-[(1E)-3-oxooct-1-enil]pirrolidin-1-il)etilo]butanoato de metilo (0,039 g, 0,1 mmoles) en 2 ml de tolueno anhidro a una solución a -30°C de (R)-2-metil-CBS-oxazaborolidina (1M en tolueno, 0,05 ml, 0,05 mmoles) y complejo borano-sulfuro de metilo (10 M, 0,01 ml, 0,1 mmoles). La reacción se agitó durante 7 horas a -30°C y después se añadió una solución de ácido clorhídrico en metanol (2M, 1-2 ml). La solución se calentó hasta temperatura ambiente y los disolventes se eliminaron a presión reducida. Se purificó el residuo bruto por cromatografía dando 11 mg de éster metílico de ácido 4-[(2-(2R)-2-[(1E,3S)-3-hidroxiocto-1-enil]-5-oxopirrolidin-1-il)-etiltio]butanoico como un aceite. Este se empleó directamente en la siguiente etapa.

## Etapa 5

30      *Ácido 4-[(2-(2R)-2-[(1E,3S)-3-hidroxioct-1-enil]-5-oxopirrolidin-1-il)-etil)etilo]butanoico*



40      A una solución de éster metílico de ácido 4-[(2-(2R)-2-[(1E,3S)-3-hidroxioct-1-enil]-5-oxopirrolidin-1-il)-etil)etilo]butanoico (0,011 g, 0,03 mmoles) en 2 ml de metanol a temperatura ambiente, bajo atmósfera de argón, se añadió una solución acuosa de hidróxido de sodio (1M, 4-5 gotas). La reacción se agitó durante 4 horas, se evaporó a presión reducida y se trató con ácido clorhídrico acuoso (1M) hasta acidez. Se diluyó el residuo con agua (10 ml) y se extrajo con acetato de etilo. La solución orgánica se secó (salmuera,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) y se evaporó para dar 7,5 mg de ácido 4-[(2-(2R)-2-[(1E,3S)-3-hidroxioct-1-enil]-5-oxopirrolidin-1-il)-etil)etilo]butanoico:

45      RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) espectro parcial 5,74(dd, 1H,  $J=5,7, 15,6$  Hz), 5,53 (dd, 1H,  $J=8,2, 15,6$  Hz), 4,11-4,20 (m con aparente q, 2H,  $J=6,0$  Hz), 3,62-3,81 (m con dd, 2H,  $J=2,4, 10,2$  Hz), 3,08-3,20 (m, 1H);

50      MS (spectro de masas) m/z (M+), 357.

55      De manera similar, siguiendo el procedimiento del Ejemplo 1, pero reemplazando los reactivos y etapas por los reactivos y etapas apropiados se obtuvieron los compuestos de la Fórmula general I:

el reemplazamiento en la etapa 1 de 4[(2-cloroetil)etilo]butanoato de metilo por 4[(2-clorobutil)etilo]acetato de metilo y reducción con borohidruro de sodio en la etapa 4 da ácido {4-[2[R-(3-hidroxioct-1E-enil)5-oxo-pirrolidin-1-il]butil-sulfanil}acético, (2) ESMS: m/z; (M<sup>+</sup>), 357

60      el reemplazamiento por éster metílico de ácido [(4-clorobutil)etilo]acético en la etapa 1 da {4-[2[R-(1E-3S-3-hidroxioct-1-enil)-5-oxo-pirrolidin-1-il]butilsulfanil}-acético, (3) ESMS: m/z (M+), 357

65      el reemplazamiento por éster etílico de ácido (4-bromo-butiloxy)acético en la etapa 1 da {4-[(R)-2-((E)-3-hidroxioct-1-enil)-5-oxo-pirrolidin-1-il]butoxi}-acético, (4) MS m/z (M<sup>+</sup>) 341, el 2-oxoheptilfosfonato de dimetilo se reemplaza por éster dimetílico de ácido [2-(5-trifluorometil-furan-2-il)-2-oxo-etil]fosfónico (preparado a su vez según el Ejemplo 5) en la etapa 3 da ácido (4-{(R)-2-[(E)-3-hidroxi-3-(5-trifluorometil-furan-2-il)-propenil]-5-oxo-pirrolidin-1-il-butilsulfanil}-acético, (5) MS m/z (M+1) 422.

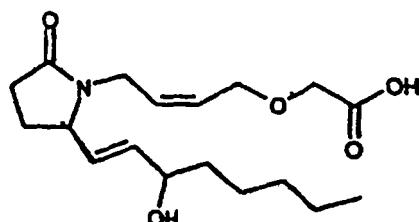
# ES 2 289 140 T3

el éster metílico de ácido 4-[{(2R)-2-[(1E,3S)-3-hidroxi-oct-1-enil]-5-oxopirrolidin-1-il}-etil]butanoico al ser expuesto a solución de diclorometano a -20°C de ácido 3-cloroperbenzoico e hidrólisis como en la etapa 5 da ácido 4-{2[(R)-2-((S)-(E)-3-hidroxi-oct-1-enil)-5-oxo-pirrolidin-1-il]-etanosulfinitil}-butírico (6) m/z (M+1) 374,

5 el éster metílico de ácido 4-(2-[(2R)-2-[(1E,3S)-3-hidroxi-oct-1-enil]-5-oxopirrolidin-1-il]-etil)butanoico al ser expuesto a una suspensión en metanol acuoso a 0°C de OXONE® da ácido 4-{2-[(R)-2-((S)-(E)-3-hidroxi-oct-1-enil)-5-oxo-pirrolidin-1-il]-etanosulfonil-butírico, (7) MS m/z (M+1), 390.

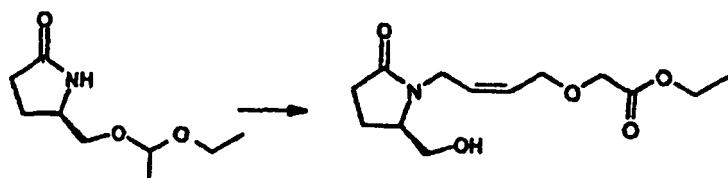
## Ejemplo 2

10 *Ácido {(Z)-4[(R)2-((E)-3-hidroxi-oct-1-enil)-5-oxo-pirrolidin-1-il]-but-2-eniloxi}-acético*



### Etapa 1

25 *Éster etílico de ácido [(Z)-4-((R)-2-hidroximetil-5-oxo-pirrolidin-1-il)-but-2-eniloxi]-acético*

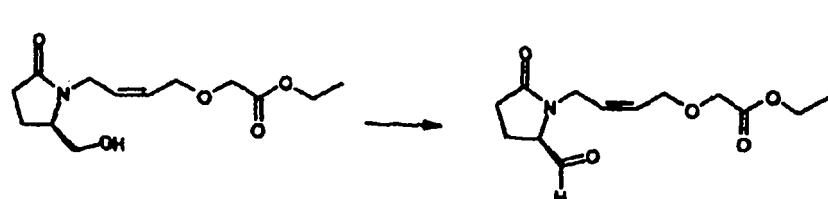


35 35 A una solución de (5R)-5-(1-etoxietoximetil)pirrolidin-2-ona (2,5 g, 13,4 mmoles) en 10 ml de dimetilformamida anhidra (DMF) a 0°C, bajo atmósfera de argón, se añadió una solución de hidruro de sodio (95%, 0,32 g, 13,4 mmoles) en 40 ml de DMF. Se retiró el baño refrigerante y la reacción se agitó durante 60 minutos. Se añadió una solución de yoduro de potasio (2,2 g, 13,4 mmoles) y éster etílico de ácido Z-4-cloro-butén-2-iloxi)acético (2,7 g, 21,3 mmoles) en 5 ml de DMF y se dejó que la solución de reacción alcanzase la temperatura ambiente, agitándose durante toda la noche. Se añadió una solución saturada de NaHCO<sub>3</sub> y la solución se extrajo, se secó (lavado con salmuera, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro) y se evaporó a presión reducida.

40 45 A una solución de éster protegido (1,8 g, 5,24 mmoles) en 20 ml de metanol anhidro a temperatura ambiente, bajo atmósfera de argón, se añadió monohidrato de ácido p-toluenosulfónico (0,1 g, 5,5 mmoles). Después de agitar durante toda la noche, se añadió solución acuosa de bicarbonato de sodio (50 ml) y la mezcla de reacción se extrajo, se secó, se concentró y se purificó por cromatografía para dar éster etílico de ácido [(Z)-4-((R)-2-hidroximetil-5-oxo-pirrolidin-1-il)-but-2-eniloxi]-acético.

### Etapa 2

50 *Éster etílico de ácido [(Z)-4-((R)-2-formil-5-oxo-pirrolidin-1-il)-but-2-eniloxi]-acético*



55 60 65 Se enfrió a -78°C una solución de dimetilsulfóxido anhidro (0,45 ml, 5,7 mmoles) en 5 ml de cloruro de metileno bajo atmósfera de argón y se añadió, gota a gota, anhídrido trifluoroacético (0,68 ml, 4,8 mmoles) en 2 ml de cloruro de metileno. Se agitó la reacción durante 15 minutos manteniendo la temperatura y luego se añadió éster etílico de ácido [(Z)-4-((R)-2-hidroximetil-5-oxo-pirrolidin-1-il)-but-2-eniloxi]-acético (0,62 g, 2,3 mmoles) en 20 ml de cloruro de metileno. La solución se agitó y se mantuvo a -70°C durante 20 minutos seguido de adición de trietilamina (0,96 ml, 6,9 mmoles). Se dejó que la reacción alcanzase la temperatura ambiente, se agitó durante 30 minutos y después se apagó con la adición de solución acuosa de cloruro de amonio. Se separaron las fases de reacción y la capa orgánica

# ES 2 289 140 T3

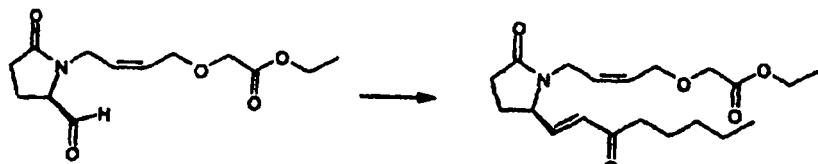
se secó (salmuera,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), se concentró y se purificó por cromatografía para dar éster etílico de ácido [(Z)-4-((R)-2-formil-5-oxo-pirrolidin-1-il)-but-2-eniloxi]-acético que se empleó en la siguiente etapa.

Etapa 3

5

*Éster etílico de ácido {(Z)-4-[(R)-2-oxo-5-((E)-3-oxo-oct-1-enil)pirrolidin-1-il]-but-2-eniloxi}acético*

10



15

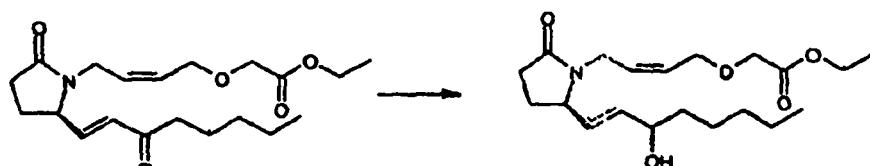
A una solución de hidruro de sodio (95%, 0,02 g, 0,78 mmoles) en 10 ml de 1,2-dimetoxietano anhidro a 0°C bajo atmósfera de nitrógeno se añadió 2-oxoheptilfosfonato de dimetilo (0,17 ml, 0,78 mmoles) y la reacción se agitó durante 1 hora. Se añadió una solución de éster etílico de ácido [(Z)-4-((R)-2-formil-5-oxo-pirrolidin-1-il)-but-2-eniloxi]-acético (0,21 g, 0,78 mmoles) en 2 ml de 1,2-dimetoxietano anhidro. Se dejó que la reacción alcanzase la temperatura ambiente, se agitó durante 3 horas y después se apagó con una solución acuosa saturada de cloruro de amonio. Después de la extracción con acetato de etilo, la solución orgánica se secó (salmuera,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), se evaporó y se purificó por cromatografía para dar éster etílico de ácido [(Z)-4-[(R)-2-oxo-5-((E)-3-oxo-oct-1-enil)pirrolidin-1-il]-but-2-eniloxi]acético, como un aceite. El material se empleó directamente en la siguiente etapa.

20

Etapa 4

*Éster etílico de ácido [(Z)-4-[(R)-2-((E)-3-hidroxi-oct-1-enil)-5-oxo-pirrolidin-1-il]-but-2-eniloxi}acético*

30



35

Se agitó a 0°C una solución de éster etílico de ácido [(Z)-4-[(R)-2-oxo-5-((E)-3-oxo-oct-1-enil)pirrolidin-1-il]-but-2-eniloxi]acético (0,7 g, 1,97 mmoles) en 15 ml de etanol, y se añadió 0,082 g de  $\text{NaBH}_4$ . La reacción se dejó alcanzar la temperatura ambiente y se agitó durante 7 horas, seguido de adición de una solución de ácido clorhídrico en metanol (2M, 1-2 ml) y extracción con acetato de etilo. La fase orgánica se secó, se concentró y se purificó por cromatografía para dar éster etílico de ácido [(Z)-4-[(R)-2-((E)-3-hidroxi-oct-1-enil)-5-oxo-pirrolidin-1-il]-but-2-eniloxi]acético que se empleó directamente en la siguiente etapa.

40

Etapa 5

45

*Ácido {(Z)-4-((R)-2-((E)-3-hidroxi-oct-1-enil)-5-oxo-pirrolidin-1-il)-but-2-eniloxi}acético*

50



55

A una solución de éster etílico de ácido [(Z)-4-[(R)-2-((E)-3-hidroxi-oct-1-enil)-5-oxo-pirrolidin-1-il]-but-2-eniloxi]acético (0,22 g, 0,6 mmoles) en una mezcla de 5 ml de metanol y 5 ml de THF a temperatura ambiente, bajo atmósfera de nitrógeno, se añadió una solución acuosa de hidróxido de litio (0,1 g, 2,4 mmoles) en 3 ml de agua. La reacción se agitó a 45°C durante toda la noche, se enfrió a temperatura ambiente y se trató con ácido clorhídrico acuoso (1 M) hasta acidez. Se diluyó el residuo con agua (10 ml) y se extrajo con acetato de etilo. La solución orgánica se secó (salmuera,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) y se evaporó para dar ácido {(Z)-4-((R)-2-((E)-3-hidroxi-oct-1-enil)-5-oxo-pirrolidin-1-il)-but-2-eniloxi}acético: ESMS m/z M+, 339.

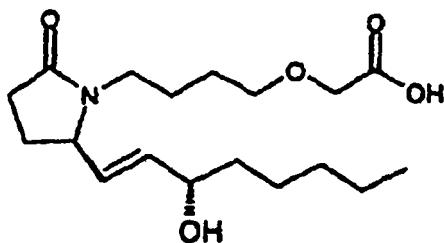
60

65

## Ejemplo 3

*Ácido {4-[(R)-2-((E)-(S)-3-hidroxi-oct-1-enil)-5-oxo-pirrolidin-1-il]-butoxil-acético}*

5

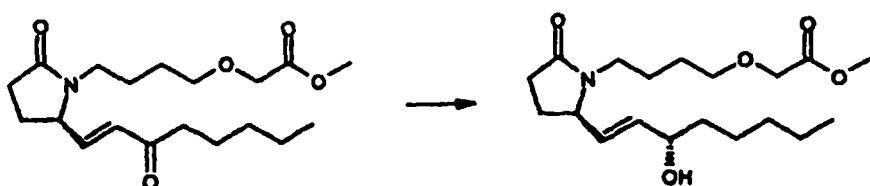


10

15 Etapa 1

*Éster metílico de ácido {4-[(R)-2-((E)-(S)-3-hidroxi-oct-1-enil)-5-oxo-pirrolidin-1-il]-butoxi}-acético*

20



25

Se añadió, gota a gota, una solución del ácido {4-[(R)-2-oxo-5-((E)-3-oxo-oct-1-enil)-pirrolidin-1-il]-butoxi acético preparado como en el Ejemplo 1 (250 mg, 0,71 mmoles) en 10 ml de tolueno anhidro a una solución a -26°C de (R)-2-metil-CBS-oxazolidina (Aldrich, 1M en tolueno, 0,35 ml) y complejo de borano-sulfuro de metilo (10 M, 0,07 ml).

La reacción se agitó bajo nitrógeno durante 7 horas a -26°C y después se añadió una solución de ácido clorhídrico en metanol (2 M, 1-2 ml). La solución se templó a temperatura ambiente y los disolventes se eliminaron a presión reducida. El residuo bruto se purificó por cromatografía en gel de sílice que condujo a 11 mg de éster metílico de ácido {4-[(R)-2-((E)-(S)-3-hidroxi-oct-1-enil)-5-oxo-pirrolidin-1-il]-butoxi}-acético, como un aceite. Este se empleó directamente en la siguiente etapa.

30

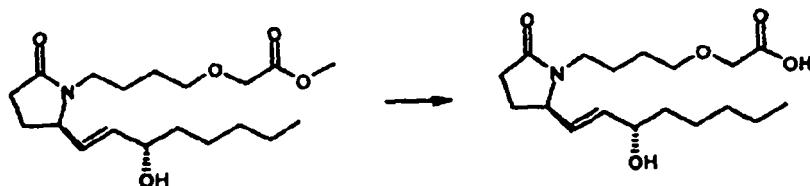
35

Etapa 2

*Ácido {4-[(R)-2-((E)-(S)-3-hidroxi-oct-1-enil)-5-oxo-pirrolidin-1-il]-butoxi}-acético*

40

45



A una solución de éster metílico de ácido {4-[(R)-2-((E)-(S)-3-hidroxi-oct-1-enil)-5-oxo-pirrolidin-1-il]-butoxi}-acético (0,14 g, 0,4 mmoles) en una mezcla de 2 ml de metanol y 2 ml de THF a la temperatura ambiente, bajo atmósfera de nitrógeno, se añadió una solución acuosa de hidróxido de litio (0,066 g, 1,6 mmoles) en 1 ml de agua. La reacción se agitó a 45°C durante toda la noche, se enfrió a temperatura ambiente y se trató con ácido clorhídrico acuoso (1 M) hasta reacción ácida. Se diluyó el residuo con agua (10 ml) y se extrajo con acetato de etilo. La solución orgánica se secó (salmuera, Na2SO4), se evaporó y se purificó por cromatografía para dar 28 g de ácido {4-[(R)-2-((E)-(S)-3-hidroxi-oct-1-enil)-5-oxo-pirrolidin-1-il]-butoxi}-acético, ESMS: m/z (M+) 341.

50

55

De manera similar, siguiendo el procedimiento del Ejemplo 3, pero reemplazando los reactivos apropiados se obtendrán los compuestos: de la Fórmula general I:

60

El reemplazamiento con éster etílico de ácido {4-[(R)-2-oxo-5-[(E)-3-oxo-4-(3-trifluorometil-fenil)-but-1-enil-pirrolidin-1-il]butoxi}acético en la etapa 1 da ácido {4-[(R)-2-[(S)-3(E)-hidroxi-4-oxo-4-(3-trifluorometil-fenil)-but-1-enil-pirrolidin-1-il]butoxi}acético, MS: m/z (M+) 430,

65

El reemplazamiento con éster etílico de ácido {4-[(R)-2-oxo-5-[(E)-3-(2'-metil-bifenil-3-il)-3-oxo-prop-1-enil]-pirrolidin-1-il]butoxi}acético y de (R)-2-metil-CBS-oxazaborolidina/sulfuro de dimetilo-borano con borohidruro de sodio-cloruro de cerio(III) en la etapa 1, da ácido {4-[(R)-2-[(E)-3-hidroxi-3-(2'-metil-bifenil-3-il)-propenil-5-oxo-pirrolidin-1-il]butoxi}acético, MS (M+1) 438

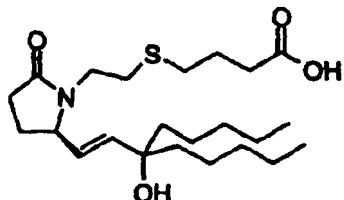
# ES 2 289 140 T3

El reemplazamiento de éster etílico de ácido {4-[{(R)-2-oxo-5-[{(E)-3-(4'-cloro-bifenil-3-il)-3-oxo-prop-1-enil]-pirrolidin-1-il}butoxi]-acético en la etapa 1 da ácido (4-{(R)-2-((E)-3-(4'-cloro-bifenil-3-il)-3-hidroxi-propenil]-5-oxo-pirrolidin-1-il}butoxi)-acético, (12) MS: m/z ( $M^{+1}$ ) 459.

5 Ejemplo 4

*Ácido 4-{2-[(R)-2-((E)-3-hidroxi-3-pentil-oct-1-enil-5-oxo-pirrolidin-1-il)-etilsulfanil]-butírico*

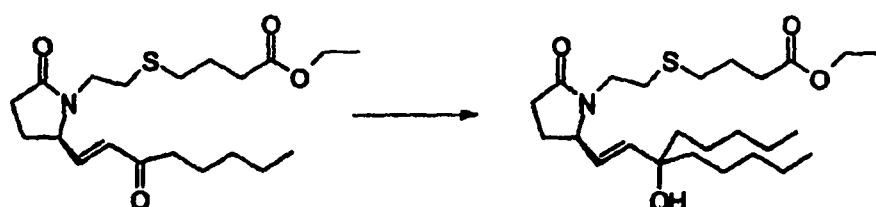
10



15

Etapa 1

20



25

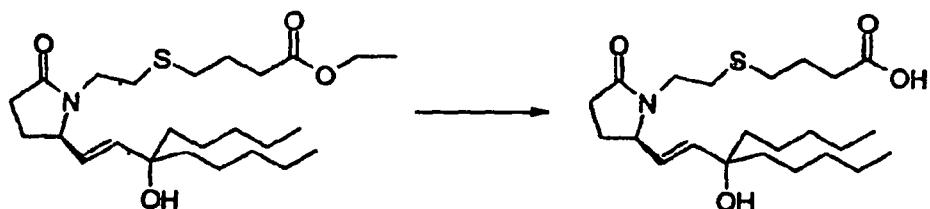
30

Una solución en tetrahidrofuran (38 ml), a -24°C, de enona (del Ejemplo 1, etapa 3, 1,52 g) se trató con bromuro de pentilmagnesio (1,8 ml, solución 2M en éter de Aldrich). Al cabo de una hora, se vertió la mezcla en cloruro de amonio acuoso y se extrajo con acetato de etilo. Después de secar y filtrar, se obtuvo el alcohol deseado (780 mg) después de cromatografía sobre gel de sílice (elución con metanol al 5% en acetato de etilo).

35

Etapa 2

40



45

50

El éster (273 mg) se disolvió en tetrahidrofuran (6 ml) y agua (1,2 ml, y se trató con LiOH H<sub>2</sub>O (126 mg). Después de agitar a temperatura ambiente durante 16 horas, la mezcla se repartió entre agua y éter etílico. La capa acuosa se aciduló con ácido acético glacial y se extrajo con acetato de etilo. Se combinaron los extractos de acetato de etilo, se secaron sobre sulfato de sodio, y se filtraron. Se obtuvo el ácido del título (215 mg) como un aceite. MS: m/z ( $M^{+1}$ ) 428.

De manera similar, siguiendo el procedimiento del Ejemplo 4, pero reemplazando los reactivos apropiados y las etapas se obtendrán los compuestos de la fórmula general I:

55

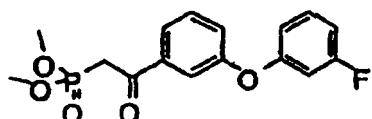
El reemplazamiento de bromuro de n-pentilmagnesio por bromuro de metilmagnesio en la etapa 1 da ácido 4-{2-[(R)-2-((E)-3-hidroxi-3-metil-oct-1-etyl-5-oxopirrolidin-1-il)-etilsulfanil]-butírico, MS: m/z ( $M^{+1}$ ) 372.

Preparación 5

60

*Éster dimetílico de ácido {2-[3-(3-fluorofenoxy)-fenil]-2-oxo-etil}fosfónico*

65

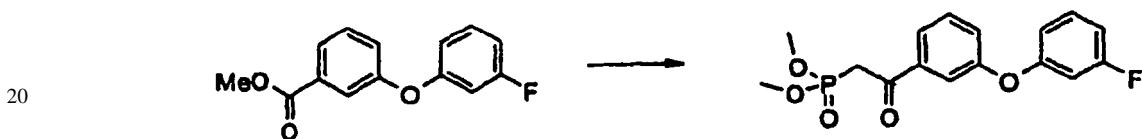


## Etapa 1



10 Se agitó a temperatura ambiente y a la atmósfera ambiente una suspensión de ácido metil 3-hidroxibenzoico (5,4 g, 35,5 mmoles), ácido 3-fluorofenilborónico (5,5 g, 35,5 mmoles), acetato cúprico (7,1 g, 35,5 mmoles), tamices moleculares 3 A (9 g), piridina (12 ml, 145 mmoles) en diclorometano (220 ml). Al cabo de 11 días, se filtró la mezcla a través de Celite® y se separaron las substancias volátiles desde el filtrado. Se eluyó el éster deseado (3,68 g) desde la columna de gel de sílice con hexano:acetato de etilo 5:1 y se empleó en la siguiente etapa.

## 15 Etapa 2

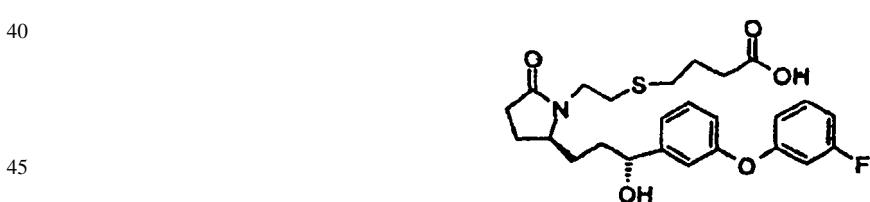


25 Se enfrió a -78°C, bajo argón, una solución en tetrahidrofurano (100 ml) de metilfosfonato de dimetilo (4,0 ml, 37,5 mmoles) y se trató con n-butillitio (15,0 ml, solución de hexano 2,5 M, 37,5 mmoles) y se dejó agitando durante 45 minutos. Se disolvió el éster obtenido en la etapa 1 (4,62 g, 18,7 mmoles) en tetrahidrofurano (15 ml) y se añadió a la solución anterior a -78°C y la mezcla resultante se agitó a 0°C durante 1 hora. Se repartió entonces la solución amarilla entre cloruro de amonio acuoso (100 ml) y éter etílico (200 ml). La porción orgánica se lavó entonces con agua fresca (3 x 30 ml) y a continuación con salmuera, y se almacenó sobre sulfato de sodio anhidro. Después de la filtración y separación de las substancias volátiles al vacío se obtuvo el  $\beta$ -cetofosfonato deseado (5,8 g) como un aceite viscoso.

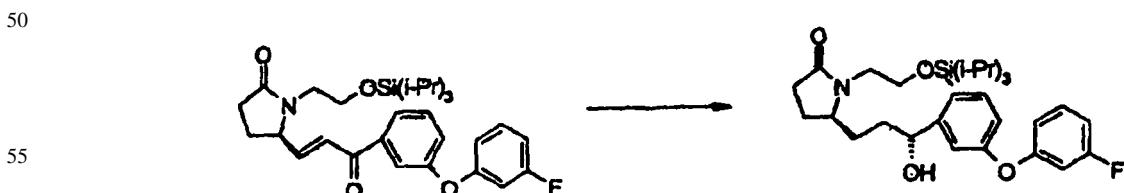
30 RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7,78 ( $\delta$ T, J= 0,6, 0,9, 7,8 Hz, 1H), 7,63 (t, J=2,1 Hz, 1H), 7,48 (t, J=8,1 Hz, 1H), 7,32-7,26 (m, 2H), 6,90-6,78 (m, 2H), 6,70 (dt, J=2,4, 9,9 Hz, 1H), 3,80 (d, J=11,2 Hz, 6H), 3,61 (d, J=22,6 Hz, 2H)

## 35 Ejemplo 5

*Ácido 4-[2-((S)-2-[(R)-3-(fluorofenoxy)-fenil]-3-hidroxi-prolil]-5-oxo-pirrolidin-1-il)etilsulfanil-butírico*

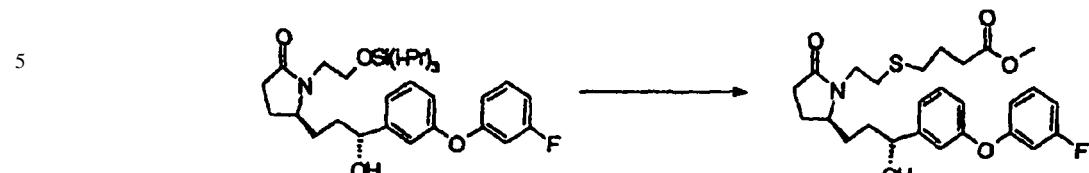


## 45 Etapa 1



55 Se trató a temperatura ambiente una solución en acetato de etilo (70 ml) de la enona (950 mg, 1,8 mmoles) con paladio al 10% sobre carbono (150 mg) y se agitó vigorosamente a presión ambiente de gas hidrógeno. Al cabo de 90 minutos, se filtró la suspensión a través de Celite® y se separaron al vacío desde el filtrado las substancias volátiles. Se disolvió el residuo (945 mg) en tolueno anhidro (10 ml) y se añadió a una solución premezclada, a 0°C, de (S)-2-metil-CBS-oxazaborolidina (0,20 ml, solución 1 M en tolueno, de Aldrich), tolueno anhidro (20 ml) un complejo borano sulfuro de dimetilo (0,25 ml, solución 5M en éter etílico). La solución amarilla se agitó a 0°C durante 1,3 horas y se trató con ácido clorhídrico (1 ml, solución metanólica 2 M). Se separaron las substancias volátiles con un evaporador rotatorio y se añadieron 10 ml de metanol. Se separaron de nuevo las substancias volátiles y se reemplazaron con 20 ml de tolueno y se volvieron a separar. La pasta blanca resultante se sometió a cromatografía de gel de sílice. Se eluyó el alcohol deseado (620 mg, 1,2 mmoles) con un gradiente de 2-propanol (2-4%) en hexano:acetato de etilo 2:1.

## Etapa 2



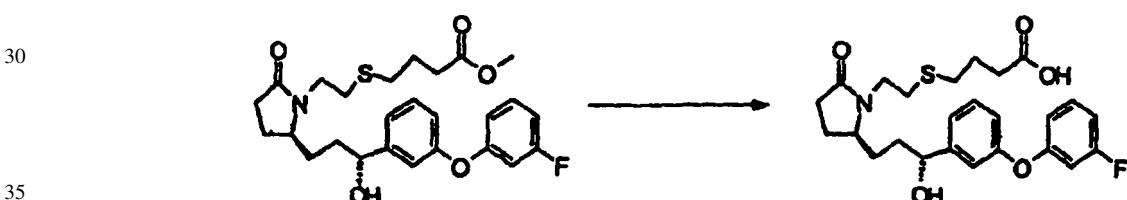
Una solución, a temperatura ambiente en tetrahidrofurano (5 ml) de éter silílico (620 mg, 1,2 mmoles) se trató con hidrato de fluoruro de tetrabutilamonio (443 mg, 1,4 mmoles). La solución se agitó durante 2,5 horas, se diluyó con 10 ml de hexano y se cargó sobre una almohadilla de silice. Se eluyó el dialcohol deseado (380 mg) con etanol al 5-10% en acetato de etilo y se obtuvo como un vidrio. Se disolvió el dialcohol (375 mg) en tetrahidrofurano (10 ml) y se enfrió a -20°C bajo argón. Se trató secuencialmente con trietilamina (0,17 ml) y cloruro de metanosulfonilo (0,08 ml) dando lugar a una suspensión. En recipiente aparte, se trató una solución de metanol anhidro (1 ml) y tetrahidrofurano anhidro (5 ml) bajo argón con t-butóxido de potasio (3,0 ml, solución 1M en tetrahidrofurano, Aldrich) y la solución ligeramente templada se agitó durante 10 minutos. Se añadió  $\gamma$ -tiobutirolactona (0,21 ml, 2,5 mmoles, Aldrich) en una porción y se agitó a temperatura ambiente durante 5 minutos y se añadió la suspensión de mesilato a través de una cánula a la solución de tiolato de potasio. Se agitó la mezcla durante 1 hora a temperatura ambiente y se repartió entonces entre cloruro de amonio acuoso y acetato de etilo (4 x 25 ml). Se almacenaron los extractos orgánicos combinados sobre sulfato sódico anhidro y las substancias volátiles se separaron con un evaporador rotatorio. Se obtuvo el éster deseado (350 mg) después de la elución de la cromatografía de gel de sílice con acetato de etilo:hexano 4:1 como un aceite; ESMS; m/z M<sup>+1</sup>, 490.

15

20

25

## Etapa 3



Se trató una solución de metanol (10 ml) del éster (350 mg, 0,72 mmoles) con hidróxido de sodio (0,5 ml, acuoso 5M) y se agitó a temperatura ambiente durante 4-5 horas. Las substancias volátiles se separaron bajo corriente de nitrógeno y la mezcla se repartió entre agua y éter etílico. Se aciduló la capa acuosa con ácido clorhídrico (acuoso 12 M) y se extrajo con acetato de etilo (4 x 15 ml). Los extractos orgánicos combinados se almacenaron sobre sulfato de sodio anhidro. Se obtuvo el ácido deseado (299 mg) después de filtración y separación de las substancias volátiles como un aceite.

40

45 RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, espectro parcial  $\delta$  7,39-7,20 (m, 2H), 7,10 (d, J=7,8 Hz, 1H), 7,03 (t, J=1,2 Hz, 1H), 6,83-6,76 (m, 2H), 6,67 (dt, J=2,4, 10,2 Hz, 1H), 4,75 (dd, J=6,7, 12,3 Hz, 1H), 3,78-3,52 (m, 2H), 2,46 (t, J=6,9 Hz, 2H);

50 MS m/z M<sup>+1</sup>, 476

De manera similar, siguiendo el procedimiento del Ejemplo 5 pero reemplazando los reactivos apropiados y etapas apropiadas se tendrán los compuestos de la Fórmula I general:

55 El reemplazamiento por (R)-5-{(E)-3.oxo-oct-1-enil}-(2-triiso-propilsiloxi-etyl)pirrolidin-2-ona en la etapa 1 da, con la exclusión de hidrogenación catalítica y el reemplazamiento de (S)-2-metil-CBS-oxazaborolidina por (R)-2-metil-CBS-oxazaborolidina y el subsiguiente uso de 4-mercaptop-3-metil butirato de metilo en la etapa 2, el ácido 4-{2-[{(R)-2-((S)-(E)-3-hidroxi-oct-1-enil)-5-oxo-pirrolidin-1-il]-ethylsulfanil}-3-metil-butíric. (16) MS: m/z (M+1) 372.

60 La utilización de (R)-5-{(E)-3-oxo-oct-1-enil}.(2-triiso.propilsiloxi-etyl)-pirrolidin-2 ona en la etapa 1 da, con el uso de ácido 4-mercaptop-2-metilbutirato de metilo en la etapa 2, ácido 4-{2-[{(R)-2-((S)-(E)-3-hidroxi-oct-1-enil)-5-oxo-pirrolidin-1-il]-ethyl-sulfanil}-4-metil-butírico, (17) MS: m/z (M+1) 372.

65 La utilización de (R)-5-{(E)-3-oxo-oct-1-enil}-1-(2-triiso-propilsiloxi-etyl)pirrolidin-2-ona en la etapa 1 da, con el uso de 4-mercaptop-2-butirato de metilo en la etapa 2, ácido 4-{2-[{(R)-2-((S)-(E)-3-hidroxi-oct-1-enil)-5-oxo-pirrolidin-1-il]ethylsulfanil}-4-metilbutírico, (18) MS: m/z (M+1) 372.

## ES 2 289 140 T3

La utilización de (R)-5-{(E)-3-oxo-oct-1-enil}-1-(2-triiso-propilsiloxi-etyl)pirrolidin-2-ona en la etapa 1 da, con el uso de 4-mercaptopropanoato de metilo en la etapa 2, ácido 4-[2[(R)-2-((S)-(E)-3-hidroxi-oct-1-enil)-5-oxo-pirrolidin-1-il]etilsulfanil]-2-buténico, (19) MS: m/z (M<sup>+1</sup>) 356.

5 (R)-5-{(E)-3-oxo-oct-1-enil}-1-(2-triiso-propilsiloxi-etyl)-pirrolidin-2-ona en la etapa 1 da, con el uso de 2-[1-(mercaptometil)ciclopropil]acetato de metilo en la etapa 2, da ácido 1-{2-[(R)-2-((S)-(E)-3-hidroxi-oct-1-enil)-5-oxo-pirrolidin-1-il]-etilsulfanilmetil}ciclopropil-acético (20) MS: m/z (M<sup>+1</sup>) 384.

10 (R)-5-{(E)-3-oxo-oct-1-enil}-1-(2-triiso-propilsiloxi-etyl)pirrolidin-2-ona da, con la utilización de tioglicolato de metilo en la etapa 2, ácido 5-{2-[(R)-2-((S)-(E)-3-hidroxi-oct-1-enil)-5-oxo-pirrolidin-1-il]-etilsulfanil-acético, (21) MS m/z (M<sup>+1</sup>) 330.

15 (R)-5-{(E)-3-oxo-oct-1-enil}-1-(2-triiso-propilsiloxi-etyl)-pirrolidin-2-ona da, con la utilización de 3 mercaptopropionato de metilo en la etapa 2 y la utilización de un tipo de lipasa en la etapa 3, ácido 3-{2-[(R)-2-((S)-(E)-3-hidroxi-oct-1-enil)-5-oxo-pirrolidin-1-il]-etilsulfanil}propiónico, (22) MS: m/z (M<sup>+1</sup>) 344.

20 (R)-5-{(E)-3-oxo-oct-1-enil}-1-(2-triiso-propilsiloxi-etyl)pirrolidin-2-ona da, con el uso de 5-mercaptopentanoato de metilo en la etapa 2, ácido 5-{2-[(R)-2-((S)-(E)-3-hidroxi-oct-1-enil)-5-oxo-pirrolidin-1-il]-etilsulfanil-pentanoico, (23) MS: m/z (M<sup>+1</sup>) 372.

25 La utilización de (R)-5-{(E)-3-[3-4'-cloro-2'-metilfenil]-fenil-3-oxo-propil-1-(2-triiso-propilsiloxi-etyl)pirrolidin-2-ona en la etapa 1 da ácido 4-[2-((S)-2-1(R)-3-(4'cloro-2'-metilfenil-fenil)fenil]-3-hidroxi-propil]-5-oxo-pirrolidin-1-il]-etilsulfanil]-butírico (24) MS: m/z (M<sup>+1</sup>) 491.

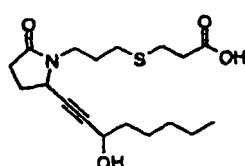
30 La utilización de (R)-5-{(E)-3-[3-(4'-cloro-2'-metilfenil)-fenil]-3-oxo-propil}-1-(2-triiso-propilsiloxi-etyl)-pirrolidin-2-ona y (R)-2-metil-CBS-oxazaborolidina en la etapa 1 da ácido 4-[2-((S)-2-{(S)-3-[3-(4'-cloro-2'-metilfenil-fenil)-3-hidroxi-propil-5-oxo-pirrolidin-1-il]-etilsulfanil}]butírico (25), MS: m/z (M+1) 491.

35 La utilización de (R)-5-{(E)-3-[3-(2',4'-difluorofenil)-fenil]-3-oxopropil}-1-(2-tri-isopropilsiloxi-etyl)pirrolidin-2-ona y (S)-2-metil-CBS-oxazaborolidina en la etapa 1 da ácido 4-[2-((S)-2-{(R)-3-[3-(2',4'-difluorofenil)-fenil]-3-hidroxi-propil-5-oxo-pirrolidin-1-il]-etilsulfanil}]butírico (26), MS m/z (M<sup>+1</sup>) 478.

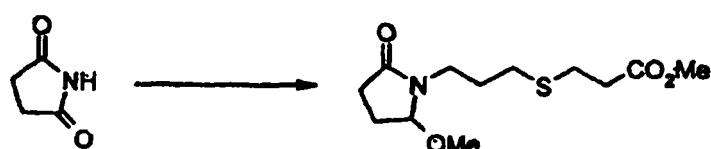
40 (R)-5-{(E)-3-[3-(4'-metoxi-2'-metilfenil)-fenil]-3-oxo-propil-1-(2-triiso-propil-siloxi-etyl)-pirrolidin-2-ona y (S)-2-metil-CBS-oxazaborolidina en la etapa 1 da ácido 4-[2-((S)-2-{R-3-(3-(4'-metoxi-2'-metil)fenil)-3-hidroxi-propil}-5-oxo-pirrolidin-1-il]-etilsulfanil]-butírico (27) MS: m/z (M+1) 486.

### Ejemplo 6

#### *Ácido 3-[3-hidroxi-oct-1-inil)-5-oxo-pirrolidin-1-il]-etilsulfanil]-propiónico*



50 Etapas 1 y 2



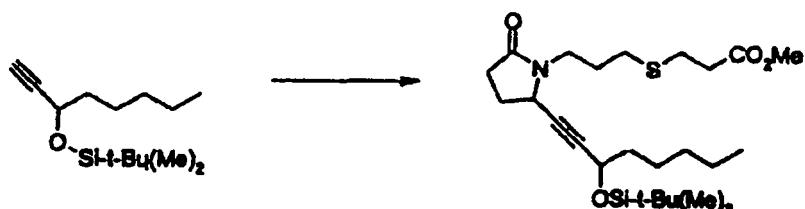
60 Se agitó a temperatura ambiente una suspensión en dimetilformamida (100 ml) de carbonato de potasio (5,9 g), succinimida (3,7 g), yoduro de tetrabutilamonio (500 mg) y 7-cloro-4-tiaheptanoato de metilo (6,7 g) a temperatura ambiente durante 44 horas. Se repartió la mezcla entre agua (400 ml) y éter:hexano 1:1 (4 x 100 ml) y se secó sobre sulfato de sodio. Después de separar las substancias volátiles en un evaporador rotatorio, la mezcla bruta se sometió a cromatografía en gel de sílice. Se eluyó el producto deseado (4,7 g) con hexano:acetato de etilo 3:2 como un aceite. Se disolvió la succinimida (4,4 g, 17 mmoles) en metanol (100 ml) y se enfrió a -5°C bajo argón. Se añadió borohidruro de sodio (911 mg, 24 mmoles) en una porción y se añadió, gota a gota, ácido clorhídrico (2M, metanol) a lo largo

# ES 2 289 140 T3

de 3 horas de manera que la temperatura interna no sobrepasara los +5°C. Se añadió borohidruro de sodio adicional (275 mg, 7,2 mmoles) y se continuó agitando durante un total de 4 horas ajustándose el pH a 3-5 con HCl/MeOH. Se separaron las substancias volátiles de la mezcla y el residuo se trató con ortoformiato de trimetilo (15 ml) e hidrato de ácido p-toluen sulfónico (700 mg) y se agitó con agitación rotatoria durante aproximadamente 18 horas. Se separaron 5 las substancias volátiles en evaporador rotatorio y el residuo se sometió a cromatografía en gel de sílice. Se eluyó la 5-metoxilactama deseada (1,14 g) con hexano:acetona 3:1: ESMS: m/z M<sup>+</sup> con pérdida de OMe, 245.

## Etapas 3, 4 y 5

10

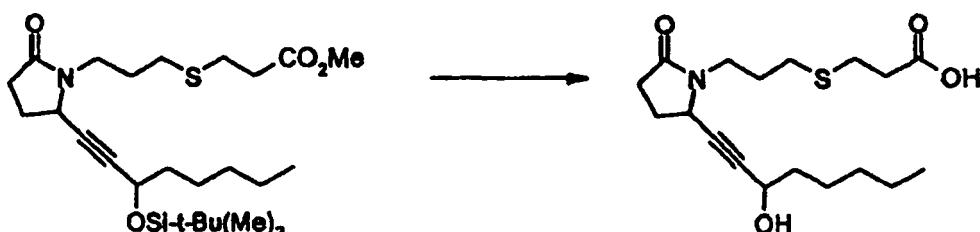


20

Se enfrió una solución de 3-t-butildimetsilsiloxi-1-octino (4,0 g, 16,7 mmoles) en tetrahidrofurano (50 ml) a -78°C y se trató con n-butillitio (7,4 ml, solución 2,5 M en hexano, de Aldrich) y se templó hasta 0°C. Al cabo de 30 minutos, se volvió a enfriar la solución a -78°C y se trató con cloruro de tri-n-butilestaño (4,8 ml, Aldrich). Se retiró el baño de enfriamiento y la solución amarilla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. La mezcla se repartió entre cloruro 25 de amonio acuoso y hexano (3 x 100 ml) y se almacenó sobre sulfato de sodio. Se obtuvo el estannano deseado (8,06 g, 15,2 mmoles) después de separación de las substancias volátiles con un evaporador rotatorio y al vacío (2 mm Hg, rotación 2 horas). Se disolvieron la 5-metoxi-γ-lactama (670 mg) y estannano (3,2 g) en diclorometano anhidro (10 ml) y se enfriaron a 0°C bajo argón. Se añadió eterato de trifluoruro de boro (1,2 ml, 9,6 mmoles) en dos porciones y la suspensión resultante se agitó a temperatura ambiente. Se añadió eterato de trifluoruro de boro (1,2 ml, 9,6 mmoles) 30 en dos porciones y la suspensión resultante se agitó a temperatura ambiente. Al cabo de 18 horas, se repartió la mezcla entre tampón de pH 4 y diclorometano (2 x 50 ml), después se almacenó sobre sulfato de sodio. Se aisló el alquino deseado (77 mg) por cromatografía en gel de sílice, se eluyó con hexano:acetato de etilo 3:2.

## Etapas 6 y 7

35



Se disolvió el éter silílico (77 mg) en tetrahidrofurano (5 ml) y ácido acético (0,03 ml) a temperatura ambiente 50 y se trató con fluoruro de tetrabutilamonio (0,24 ml, solución 1 M en THF, Aldrich) y se agitó durante 16 horas. Se diluyó la solución con hexano (10 ml) y se cargó sobre una almohadilla de sílice. El alcohol (40 mg) se eluyó con acetato de etilo:hexano 3:1 y se suspendió en 10 ml de tampón fosfato 10 mM (pH 6,5) a temperatura ambiente. La suspensión se trató con lipasa tipo VII (500 mg de C. rugosa, Sigma) y se agitó vigorosamente durante 4-5 horas. La mezcla se diluyó con acetato de etilo (15 ml) y ácido acético (0,5 ml) y se cargó sobre Celite. Se lavó la torta del filtro 55 con acetato de etilo (40 ml). Después de la separación de las substancias volátiles desde el filtrado, se obtuvo el ácido del título como un aceite (5,9 mg):

RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, espectro parcial) δ 4,44-4,37 (m, 1H), 2,81 (t, J=6,8 Hz, 2H), 2,65 (t, J=7,1 Hz, 2 H), MS: m/z (M+1)356.

60

65

# ES 2 289 140 T3

## Ejemplo 7

Las siguientes son formulaciones farmacéuticas representativas que contienen compuesto de la Fórmula 1.

### 5 Formulación de tabletas

Se mezclan íntimamente los ingredientes dados a continuación y se prensan para dar tabletas con un solo troquelado.

Ingrediente	Cantidad de mg por tableta
compuesto de esta invención	400
almidón de maíz	50
croscaramelosa sódica	25
lactosa	120
estearato de magnesio	5

### 25 Formulación de cápsulas

Se mezclan íntimamente los ingredientes dados a continuación y se introducen en una cápsula de gelatina dura.

Ingrediente	Cantidad de mg por cápsula
Compuesto de la invención	200
lactosa, secada por pulverización	148
estearato de magnesio	2

### Formulación en suspensión

40 Se mezclan los siguientes ingredientes para formar una suspensión para administración oral para:

Ingrediente	Cantidad
compuesto de la iunvención	1,0 g
ácido fumárico	0,5 g
cloruro de sodio	2,0 g
metil parabeno	0,15 g
propil parabeno	0,05 g
azúcar granulado	25,5 g
sorbita (solución al 70%)	12,85 g
Veegum K (Vanderbilt Co.)	1,0 g
saborizante	0,035 ml
colorantes	0,5 mg
agua destilada	c.s. hasta 100 ml

# ES 2 289 140 T3

## *Formulación inyectable*

Se mezclaron los siguientes ingredientes para formar una formulación inyectable.

5

Ingrediente	Cantidad
compuesto de la invención	0.4 mg
solución de tampón de acetato de sodio, 0,4 M	2,0 ml
HCl (1 N) o NaOH (1 N)	c.s. para un pH adecuado
agua (destilada, estéril)	c.s. hasta 20 ml

20 Ejemplo 8

## *Actividad funcional de receptor EP<sub>4</sub> (o EP<sub>2</sub>) por un ensayo de luciferasa*

### *Generación de clones de EP<sub>4</sub>-luciferasa establemente transfectados*

25

Se subclonó ADNc de receptor de prostanoide EP<sub>4</sub> correspondiente a la secuencia de codificación de longitud completa en los lugares apropiados del ADNpc 3.1(+)/Zeo (Invitrogen) de vector de expresión de mamífero. Se clonó además la secuencia que contenía elemento de respuesta CAMP (CRE) y gen de luciferasa a un vector pXP1. La co-transfección a las células CHO con EP4R que contenía ADNpc y CRE-luciferasa que contenía pXP1 se llevó a cabo con una relación de ADN de 5 a 1 con Fugene (Roche Molecular) en un medio F-12 (Gibco) suplementado con Suero Bovino Fetal inactivado por calor al 10% (Gibco). Tres días después de la transfección, se reemplazó el cultivo con medio fresco que contenía Zeocina. El cultivo se mantuvo durante un mes hasta que se generaron clones estables.

### *Ensayo de genes de luciferasa dependientes de c-AMP*

35

Se midió la actividad funcional de un ligando de agonista de EP4 en su unión a receptor por la producción de c-AMP intra-celular. Aquí, se midió el nivel de c-AMP indirectamente por la traducción de un gen informador, luciferasa en los clones de EP4-luciferasa. Las células de clones EP4-luciferasa se sub-cultivaron en 200 µl de medio F12 (Gibco, BRL) que contenía FBS al 10% (Gibco BRL) y Hepes 25 mM en placas de 96 pocillos (Packard) a una densidad de 40.000 células/pocillo. Después de un cultivo durante toda la noche a 37°C, 5% de CO<sub>2</sub>, 95% de aire, el medio de cultivo se separó a la mañana siguiente. Se lavaron las células dos veces con 100 µl de agente tampón de Hanks, y se les volvió a proveer de 90 µl de medio F12 que contenía BSA al 0,1%. Después de pre-incubación del cultivo durante hora y media a tres horas a 37°C, 5% de CO<sub>2</sub>, 95% de aire, se añadieron al cultivo 10 µl de los compuestos de interés a 10 veces la concentración deseada y se continuó la incubación a 37°C durante otras tres horas. Se incluyó, rutinariamente en cada ensayo, 0,1 µM de PGE2 como control de agonista completo para determinar la estimulación máxima de luciferasa mediada por receptor EP4.

Al final de la incubación, el medio de cultivo se vertió y se sometió a tratamiento secativo para secarlo. La placa quedó entonces lista para ensayo de la luciferasa.

50

### *Determinación cuantitativa de la actividad de luciferasa*

Se utilizó un estuche de ensayo (kit) LucLite, adquirido en Packard, para determinar cuantitativamente la actividad de luciferasa. Treinta minutos antes de determinar la incubación, se dejaron equilibrar el substrato LucLite y el tampón de substrato (Packard) a temperatura ambiente. El substrato se disolvió en el tampón de substrato y se mezcló por inversión. Se mezclaron entonces volúmenes iguales de Solución Salina tamponada con fosfato de Dubecco (DPBS, Gibco, BRL) que contenía MgCl<sub>2</sub> 1 mM y CaCl<sub>2</sub> 1 mM con la solución de substrato reconstituida para utilización en la siguiente etapa. Se añadieron 100 µl de la solución mixta a cada pocillo de la placa de 96 pocillos. La placa se sacudió a 300 rpm sobre un sacudidor de placas durante 3 minutos. Se retiró la cubierta de placa y se reemplazó por sellador de placa (Packard) para realizar el conteo en un contador de centelleo. Se determinó entonces la CE<sub>50</sub> de un compuesto con un programa de establecimiento de una curva de cuatro parámetros de KaleidaGraph.

65

# ES 2 289 140 T3

## Ejemplo 9

### Ensayo de unión competitiva de ${}^3\text{H}\text{JPGE}_2$ a receptor $\text{rEP}_2$ , $\text{rEP}_3$ y $\text{rEP}_4$

#### 5 Cultivo de células y transfecciones

Se hicieron crecer células establemente transfectadas que expresaban EP3 en medio F12 (GIBCO) suplementado con Suero Fetal Bovino certificado inactivado por calor al 10% (GIBCO) y se aglomeraron. Se subclonó ADNc de receptor de prostanoide EP<sub>2</sub> ó EP<sub>4</sub> correspondiente a la secuencia que codifica longitud completa en las sedes apropiadas de ADNpc 3,1(+)/Zeo (Invitrogen) de vector de expresión de mamífero. Se prepararon cantidades a escala de transfección del vector utilizando el estuche de equipo Qiagen Endo-Free Plasmid Maxi kit y se transfectaron a células COS-7 utilizando FuGene 6 (Roche Molecular) siguiendo las instrucciones del fabricante (Roche). Se hicieron crecer células COS-7 en DMEM (GIBCO) suplementado con 10% de Suero Fetal Bovino certificado inactivado por calor (GIBCO) y Gentamicina (GIBCO) y se recogieron 72 horas después de la transfección. Se aglomeraron las células por centrifugación, se lavaron con PBS (GIBCO), se volvieron a aglomerar, se sometieron a congelación instantánea en hielo seco/etanol o se utilizaron directamente para preparación de membrana.

#### Preparación de membrana

20 Todos los procedimientos de preparación de membrana se llevaron a cabo a 4°C. Las células COS-7 transfectadas con receptor de prostanoide o células CHO transfectadas establemente se homogeneizaron en tampones de ensayo (véase la receta a continuación) utilizando un homogeneizador Polytron (Brinkman) y se centrifugaron a 48.000 x g durante 30 minutos. Se volvieron a suspender los aglomerados en agente tampón de ensayo y se volvieron a suspender por sonicación utilizando un sonificador Branson. La concentración de proteína se determinó utilizando el ensayo de 25 proteinas BioRad DC siguiendo las indicaciones del fabricante y se almacenaron a -80°C.

#### Ensayo de unión a receptor de prostanoide

30 Los métodos para ensayos de unión de afinidad competitiva de EP2, EP3 y EP4 se derivaron de los descritos por M Abramovich y col. "La utilización de receptores de prostanoide recombinantes para determinar las afinidades y selectividades de prostaglandinas y análogos relacionados" *Biochimica et Biophysica Acta* 1483 (2000) 285-293. Los ensayos de unión se llevaron a cabo a un volumen final de incubación de 0,2 ml, en los siguientes agentes tampón de ensayo: HEPES 20 mM, EDTA 1 mM, y MgCl<sub>2</sub> 10 mM (pH 7,4) (EP3) o MES 10 mM, MnCl<sub>2</sub> 10 mM, y EDTA 1mM (pH a 6,0 con NaOH) (EP2 y EP4) y radioligando (2,25 nM (EP3) o 2,5 nM (EP2) [ ${}^3\text{H}$ ]-PGE2 (200 Ci/mmol, NEN). Las reacciones se iniciaron por adición de proteína de membrana (aproximadamente 50 µg/reacción para EP3, 100 µg para EP2 y EP4). La concentración de dimetilsulfóxido (Sigma) se mantuvo constante a 1% (v/v) en todas las incubaciones, y los compuestos se ensayaron a las concentraciones finales de 100 µM-0,3 nM. Se determinó unión no específica en la presencia de 10 µM de PGE2 no radiactiva (Cayman Chemical). Se llevaron a cabo incubaciones durante 60 minutos a 30°C (EP3) o 45 minutos a 23°C (EP2 y EP4). Las incubaciones se terminaron por filtración rápida a través de Unifilter de 96 pocillos GF/B (Packard) (prehumedecido con MES 10 mM, BSA al 0,01%, pH 6,0 para EP2) a 4°C utilizando un colector de células semi-automático de 96 pocillos Filtermate 196 (Packard). Los filtros se lavaron con 3,4 ml de tampón de lavado (HEPES 20 mM pH 7,4 para EP3, MES 10 mM, BSA al 0,01%, pH 6,0 para EP2 y EP4), se secaron durante al menos 1 hora a temperatura ambiente y se determinó la radiactividad residual unida a los filtros individuales por conteo de centelleo con adición de 37,5 µl de Microscint 20 (Packard) utilizando un contador de centelleo Packard TopCount Microplate Scintillation Counter. Las estadísticas de unión se determinaron utilizando programas Prism v 3.0 (GraphPad).

Compuesto	EP <sub>1</sub> , Ki (nM)	EP <sub>2</sub> , Ki (nM)	EP <sub>3</sub> , Ki (nM)	EP <sub>4</sub> , Ki (nM)
Acido 4-[(2-{(2R)2- [(E,3S)-3-hidroxioc-1- enil]-5-oxo-pirrolidin-1- il}ethyl)thio]butanoico	>10.000	1.600	2.600	5
Acido{(Z)-4-[(R)2-((E)- 3-hidroxi-oct-1-enil)-5- oxo-pirrolidin-1-il]- but-2-eniloxi}-acético	NT	>10.000	NT	NT

ES 2 289 140 T3

5 10 15 20 25 30	Acido (4-{(R)-2-[(S)-(E)-3-hidroxi-4-(3.trifluorometil-fenil)-but-1-enil]-5-oxo-pirrolidin-1-il}etil)-butoxi-acético	>10.000	66.000	>10.000	7
	4-{2-[(R)-2-((E)-3-hidroxi-3-metil-oct-1-enil-5- oxo-pirrolidin-1-il}-etilsulfanil)-butírico	NT	18.000	NT	90
	Acido (4-[2-((S)-2-{(R)-3-(3-fluoro-fenoxy)-fenil]-3-hidroxi-propil-5-oxo-pirrolidin-1-il-ethyl-sulfanil]-butírico	NT	7.800	49.000	8

NT = No ensayado

35 Ejemplo 10

*Ensayo de densidad de masa ósea*

40 Se evaluaron los compuestos de esta invención en cuanto a su efecto sobre la masa ósea en ratas ovarioectomizadas.

Ratas hembra Sprague Dowley o Wistar Hanover, adultas, se operaron simuladamente o se ovarioectomizaron por Charles River. Al recibirlas, las ratas, se enjaularon en parejas en una habitación medioambientalmente controlada y se aclimataron durante al menos 1 semana. Los animales se alimentaron por pares mientras estuvieron enjaulados allí.

45 Se les administró subcutáneamente el compuesto de ensayo una vez al día, comenzando el día 20 post-cirugía durante 5 semanas en EtOH/solución salina al 10% o tampón fósforo 20 mM.

50 Antes del tratamiento y al final del tratamiento, se hizo una exploración (scanner) de las ratas utilizando programa Hih Resoluion software Package en un Densitómetro de Huesos Hologic QDR-4500 para medir la densidad mineral del hueso (BMD). Se analizaron entonces las exploraciones utilizando las regiones de interés tal como se designa a continuación: fémur completo, fémur proximal, diáfisis del fémur, fémur distal, metáfisis de fémur distal, tibia proximal, metáfisis de tibia proximal, vértebras L2-L4, vértebras L5.

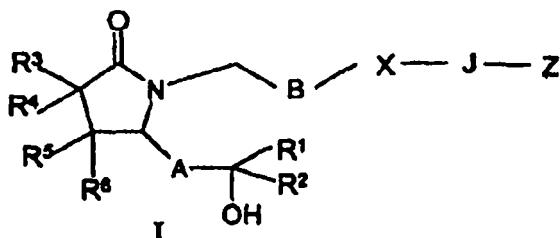
55 Para verificación del efecto de ovarioectomía sobre la masa ósea, se compararon los grupos de operación simulada y grupos OVX de vehículo similar utilizando ensayo t de Student. Los grupos OVX se compararon por análisis de varianza de una vía (ANOVA), seguido de LSD de Fisher para comparar cada grupo de tratamiento con el de vehículo cuando el efecto completo era estadísticamente significativo. Los datos se estimarán antes del anterior análisis y realizarse los correspondientes análisis no-paramétricos (ensayo de suma de puntuaciones de Wilcoxon o Kruskai-Wallis).

60 La ovarioectomía inducía una pérdida de hueso substancialmente total, principalmente del hueso trabecular. La BDM total era 5-20% más baja que para los controles de operación simulada.

## REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de la Fórmula I:

5



10

15

donde:

B es  $-\text{CH}_2-$ ,  $-(\text{CH}_2)_2-$ ,  $-(\text{CH}_2)_3-$ ,  $-(\text{CH}_2)_4-$ , ó  $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-$ ;

20

X es  $-\text{NR}^8-$  siendo  $\text{R}^8$  hidrógeno, halógeno, alquilo de  $\text{C}_1\text{-C}_6$  ó acilo de  $\text{C}_1\text{-C}_6$ ,  $-\text{O}-$ ,  $-\text{S}-$ ,  $-\text{SO}-$  ó  $-\text{SO}_2-$ .

25

J es  $-(\text{CR}^b\text{R}^c)_n-$ , siendo n un entero de 1 a 4, y  $\text{R}^b$  y  $\text{C}^c$  son, ambas, hidrógeno,

A es  $-\text{CH}_2\text{-CH}_2-$ ,  $-\text{CH}=\text{CH}-$ , ó  $-\text{C}\equiv\text{C}-$ .

30

Z  $-\text{C}(\text{O})\text{OR}'$ , donde  $\text{R}'$  es hidrógeno o alquilo de  $\text{C}_1\text{-C}_6$ ,

n es 1, 2, 3 ó 4.

35

$\text{R}^1$  es  $-(\text{CH}_2)_p\text{R}^7$  ó  $-(\text{CH}_2)_q\text{OR}^8$ , donde  $\text{R}^7$  y  $\text{R}^8$  son, cada una independientemente entre sí, alquilo de  $\text{C}_1\text{-C}_6$ , haloalquilo de  $\text{C}_1\text{-C}_6$ , cicloalquilo de  $\text{C}_3\text{-C}_8$ ,

40

45

50

o heterociclico seleccionado del grupo de tetrahidropiranilo, piperidinilo, N-metilpiperidin-3-ilo, piperazinilo, N-metilpirrolidin-3-ilo, 3-pirrolidinilo, morfonilo, tiomorfolinilo, tiomorfolino-1-óxido, tiomorfolino-1,1-dióxido, pirrolinilo, imidazolinilo, N-metanosulfonil-piperidin-4-ilo, y estando opcionalmente sustituido el heterociclico con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados entre alquilo, haloalquilo, halo, nitro, ciano;

55

60

o un grupo arilo seleccionado entre fenilo, 1-naftilo, 2-naftilo, y estando opcionalmente sustituidos dichos grupos por uno, dos o tres sustituyentes seleccionados del grupo consistente en alquilo, haloalquilo, halo, nitro, ciano, amino, metilendioxilo, etilendioxilo, fenilo sustituido opcionalmente por Y, Y-heteroarilo, Y-cicloalquilo, -Y-heterociclico, -Y-OR', -Y-NR'R'', -Y-C(O)-R', -Y-S(O)<sub>0-2</sub>-R', Y-N-SO<sub>2</sub>-R', Y-SO<sub>2</sub>-NR'R'', -Y-N-C(O)-NR'R'', donde Y es un enlace o un grupo alquieno de  $\text{C}_1\text{-C}_3$ , y R' y R'' son, independientemente entre sí, hidrógeno, alquilo, haloalquilo, hidroxi, alcoxi, fenilo opcionalmente sustituido, heteroarilo, cicloalquilo, heterociclico;

65

70

75

80

85

90

95

100

105

110

115

120

125

130

135

140

145

150

155

160

165

170

175

180

185

190

195

200

205

210

215

220

225

230

235

240

245

250

255

260

265

270

275

280

285

290

295

300

305

310

315

320

325

330

335

340

345

350

355

360

365

370

375

380

385

390

395

400

405

410

415

420

425

430

435

440

445

450

455

460

465

470

475

480

485

490

495

500

505

510

515

520

525

530

535

540

545

550

555

560

565

570

575

580

585

590

595

600

605

610

615

620

625

630

635

640

645

650

655

660

665

670

675

680

685

690

695

700

705

710

715

720

725

725

730

735

740

745

750

755

760

765

770

775

780

785

790

795

800

805

810

815

820

825

830

835

840

845

850

855

860

865

870

875

880

885

890

895

900

905

910

915

920

925

930

935

940

945

950

955

960

965

970

975

980

985

990

995

1000

1005

1010

1015

1020

1025

1030

1035

1040

1045

1050

1055

1060

1065

1070

1075

1080

1085

1090

1095

1095

1100

1105

1110

1115

1120

1125

1125

1130

1135

1140

1145

1150

1155

1160

1165

1170

1175

1180

1185

1190

1195

1200

1205

1210

1215

1220

1225

1230

1235

1240

1245

1250

1255

1260

1265

1270

1275

1280

1285

1290

1295

1300

1305

1310

1315

1320

1325

1330

1335

1340

1345

1350

1355

1360

1365

1370

1375

1380

1385

1390

1395

1400

1405

1410

1415

1420

1425

1430

1435

1440

1445

1450

1455

1460

1465

147

# ES 2 289 140 T3

5. El compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, donde Z es COOH.

6. El compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, donde R<sup>7</sup> es arilo, heteroariloo heterociclico, donde el arilo, el heteroarilo y el heterociclico son tales como se han definido en la reivindicación 1.

7. El compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, donde R<sup>7</sup> es un fenilo opcionalmente sustituido con un substituyente seleccionado del grupo consistente en alquilo, trifluorometilo, halógeno, -YR<sup>9</sup>, -Y-OR<sup>9</sup> e -Y-C(O)R<sup>9</sup>, donde Y es un enlace o un grupo alquieno de C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>, y R<sub>9</sub> es alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, arilo, heteroarilo o heterociclico.

10 8. El compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, donde p es 0.

9. El compuesto según las reivindicaciones 1 a 8, donde B es -CH<sub>2</sub>- y X es -NH-, -O- ó -S-.

10 10. El compuesto según la reivindicación 5 donde:

15 B es -CH<sub>2</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>- ó (CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-; y

X es -NH, -O-, -S-, -SO- ó -SO<sub>2</sub>-.

20 11. El compuesto según la reivindicación 10 donde R<sup>7</sup> es un fenilo opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados del grupo consistente en alquilo, trifluorometilo, halo, -Y-R<sup>9</sup> ó -Y-OR<sup>9</sup>, donde Y es un enlace y R<sup>9</sup> es alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, halo o fenilo opcionalmente sustituido.

25 12. El compuesto según la reivindicación 11, donde p es 0.

13. El compuesto según la reivindicación 11, donde J es -(CHR<sup>a</sup>)<sub>3</sub>- y una de las R<sup>a</sup> es alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> y las otras son hidrógeno.

30 14. El compuesto según la reivindicación 11, donde J es -(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-.

15. El compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 13 a 14 donde p es 0 ó 1.

16. El compuesto según la reivindicación 10 donde A es CH=CH y R<sup>1</sup> es pentilo.

35 17. El compuesto según la reivindicación 10 donde A es CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>- y R<sup>1</sup> es pentilo.

18. El compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17 seleccionado del grupo que consiste en

40 a) éster metílico de ácido 4[2-{(2R)-2-[(1E,3S)-3-hidroxi-oct-1-enil]-5-oxo-pirrolidin-1-il]etil}tio]butanoico;

b) ácido 4[2-{(2R)-2-[(1E,3S)-3-hidroxi-oct-1-enil]-5-oxo-pirrolidin-1-il]etil}-tio]-butanoico;

c) ácido {4-[2(R)-(3-hidroxi-oct-1E-enil)5-oxo-pirrolidin-1-il]butilsulfanil}-acético;

d) ácido {4[2(R)-2-(1E-3S-3-hidroxi-oct-1-enil)5-oxo-pirrolidin-1-il]butyl-sulfanil}-acético;

e) ácido {4-[(R)-2-((E)-3-hidroxi-oct-1-enil)-5-oxo-pirrolidin-1-il]butoxi}-acético;

f) ácido (4-{(R)-2-[(E)-3-hidroxi-3-(5-trifluorometil-furan-2-il)-propenil]-5-oxo-pirrolidin-1-il]butilsulfanil)-acético;

55 g) ácido 4{2-[(R)-2-((S)-(E)-3-hidroxi-oct-1-enil)-5-oxo-pirrolidin-1-il]etano-sulfinil}-butírico;

h) ácido 4{2-[(R)-2-((S)-(E)-3-hidroxi-oct-1-enil)-5-oxo-pirrolidin-1-il]etano-sulfonil}-butírico;

i) ácido {(Z)-4-[R)-2-((E)-3-hidroxi-oct-1-enil)-5-oxo-pirrolidin-1-il]-but-2-eniloxi-acético;

j) ácido {4-[(R)-2-((E)-(S)-3-hidroxi-oct-1-enil)-5-oxo-pirrolidin-1-il]butoxi}-acético;

60 k) (4-{(R)-2-[(S)-(E)-3-hidroxi-4-(3-trifluorometil-fenil)-but-1-enil]-5-oxo-pirrolidin-1-il)butoxi})acético;

l) acido (4-{(R)-2-[(E)-3-hidroxi-3-(2'-metil-bifenil-3-il)-propenil]-5-oxo-pirrolidin-1-il}butoxi)-acético;

m) acido (4-{(R)-2-[(E)-3-(4'-cloro-bifenil-3-il)-3-hidroxi-propenil]-5-oxo-pirrolidin-1-il}butoxi)-acético;

n) ácido 4-12-[(R)-2-((E)-3-hidroxi-3-pentil-oct-1-enil)-5-oxo-pirrolidin-1-il]-etilsulfanil}-butírico

65 o) ácido 4-(2-[(R)-2-((E)-3-hidroxi-3-metil-oct-1-enil)-5-oxo-pirrolidin-1-il]-etilsulfanil}-butírico

ES 2 289 140 T3

p) ácido 4-[2-((S)-2-[(R)-3-[-(3-fluoro-fenoxi)fenil]-3-hidroxi-propil]-5-oxo-pirrolidin-1-il]etilsulfanil]-butírico;

q) ácido 4-[2-((S)-2-[(R)-3-[3-(4'-cloro-2'-metilfenil)-fenil]-3-hidroxi-propil]-5-oxo-pirrolidin-1-il]etilsulfanil]-butírico;

5 r) ácido 4-[2-((S)-2-{(S)-3-[3-(4'-cloro-2-metilfenil)-fenil]-3-hidroxi-propil]-5-oxo-pirrolidin-1-il]etilsulfanil]-butírico;

10 s) ácido 4-(2-{(S)-2-[(R)-3-(2',4'-difluorobifenil)-3-il]-3-hidroxi-propil}-5-oxo-pirrolidin-1-il]etilsulfanil]-butírico;

t) ácido 4-[2-{(S)-2-[(R)-3-hidroxi-3-(4'-metoxi-2'-metil-bifenil-3-il)-propil]-5-oxo-pirrolidin-1-il]etilsulfanil]-butírico;

15 u) ácido 4-{2-[(R)-2-((S)-(E)-3-hidroxi-oct-1-enil)-5-oxo-pirrolidin-1-il]-etilsulfanil]-4-metil-butírico;

v) ácido 4-{2-[(R)-2-((S)-(E)-3-hidroxi-oct-1-enil)-5-oxo-pirrolidin-1-il]-etilsulfanil]-3-metil-butírico;

w) ácido 4-{2-[(R)-2-((S)-(E)-3-hidroxi-oct-1-enil)-5-oxo-pirrolidin-1-il]-etil-sulfanil]-2-metil-butírico;

20 x) ácido 4-{2-[(R)-2-((S)-(E)-3-hidroxi-oct-1-enil)-5-oxo-pirrolidin-1-il]-etilsulfanil]-2-metil-butenírico;

y) ácido (1-{2-[(R)-2-((S)-(E)-3-hidroxi-oct-1-enil)-5-oxo-pirrolidin-1-il]-etil-sulfanil-etyl}-ciclopropil)acético;

25 z) ácido 5{2-[(R)-2-((S)-(E)-3-hidroxi-oct-1-enil)-5-oxo-pirrolidin-1-il]etil-sulfanil]-acético;

aa) ácido 3{2-[(R)-2-((S)-(E)-3-hidroxi-oct-1-enil)-5-oxo-pirrolidin-1-il]etil-sulfanil]-propiónico;

bb) ácido 5-{2-[(R)-2-((S)-(E)-3-hidroxi-oct-1-enil)-5-oxo-pirrolidin-1-il]etil-sulfanil]-pentanoico; y

30 cc) ácido 3{3-[2-(3-hidroxi-oct-1-inil)-5-oxo-pirrolidin-1-il]-propilsulfanil}-propiónico.

19. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto tal como el definido en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 18 en mezcla con al menos un vehículo, diluyente o excipiente adecuados.

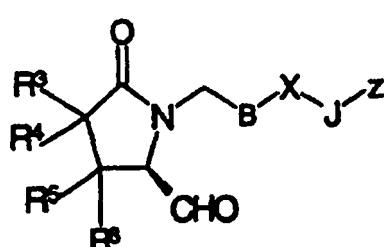
20. Utilización de un compuesto tal como el definido en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 18 para la preparación de un medicamento.

40 21. La utilización según la reivindicación 20 para la preparación de un medicamento para el tratamiento de enfermedad asociada a trastornos de huesos.

22. La utilización según las reivindicaciones 20 y 21 para la preparación de un medicamento para el tratamiento de la osteoporosis.

45 23. Un procedimiento para preparar un compuesto como el definido en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 18, donde R<sup>2</sup> es hidrógeno, que comprende:

la reacción de un compuesto de la Fórmula general II



II

donde

B, X, J, Z, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>5</sup> y R<sup>6</sup> son tales como se han definido en la reivindicación 1,

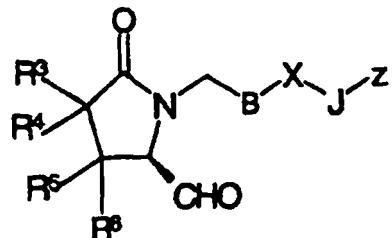
ES 2 289 140 T3

con un fosfonato de fórmula general  $R^1-C(O)-CH_2PO(OCH_3)_2$  donde  $R^1$  es tal como se ha definido en la reivindicación 1, seguido de reducción hidrólisis.

24. Un procedimiento para la preparación de un compuesto según la reivindicación 1 donde  $R^2$  es alquilo de  $C_1-C_6$ , alquenilo de  $C_1-C_6$ , o alquinilo de  $C_1-C_6$ , que comprende:

la reacción de un compuesto de la fórmula general II:

10



15

**II**

donde

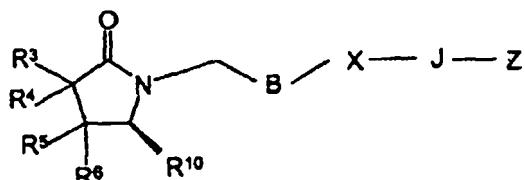
25 B, X, J, Z,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R_5$  y  $R_6$  son tales como se han definido en la reivindicación 1,

con un fosfonato de fórmula general  $R^1-C(O)-CH_2PO(OCH_3)_2$  donde  $R^1$  es tal como se ha definido en la reivindicación 1,

30 seguido de reacción con un compuesto organometálico de fórmula  $R^2M$ , donde M es haluro de metal o de magnesio seguido de doble hidrólisis.

25. Un compuesto de la Fórmula II

35



40

**II**

45 donde

B, X, J,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^5$  y  $R^6$  son tales como se han definido en la reivindicación 1

50 Z es  $C(O)OR'$  donde  $R'$  es hidrógeno o alquilo de  $C_1-C_6$  y  $R^{10}$  es  $-CHO$ .

55

60

65