



(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 330 841**

(51) Int. Cl.:

C07D 207/22 (2006.01)

C07D 521/00 (2006.01)

C07D 403/06 (2006.01)

A61K 31/4025 (2006.01)

A61P 5/10 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(96) Número de solicitud europea: **03762692 .6**

(96) Fecha de presentación : **04.07.2003**

(97) Número de publicación de la solicitud: **1532109**

(97) Fecha de publicación de la solicitud: **25.05.2005**

(54) Título: **Derivados de pirrolidina en calidad de antagonistas de oxitocina.**

(30) Prioridad: **05.07.2002 EP 02100784**

(45) Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.12.2009

(45) Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.12.2009

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

(72) Inventor/es: **Jorand-Lebrun, Catherine;**
Dorbais, Jérôme;
Quattropiani, Anna;
Schwarz, Matthias y
Valognes, Delphine

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

ES 2 330 841 T3

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

DESCRIPCIÓN

Derivados de pirrolidina en calidad de antagonistas de oxitocina.

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a nuevos derivados de pirrolidina, en particular para usar como medicamentos, así como también a formulaciones farmacéuticas que contienen tales derivados de pirrolidina. Dichos derivados de pirrolidina son útiles para el tratamiento y/o la prevención del parto anticipado, los alumbramientos prematuros y la dismenorrea. Preferiblemente, los derivados de pirrolidina manifiestan una actividad moduladora, notablemente una actividad antagonista del receptor de oxitocina. Más preferiblemente, dichos compuestos son útiles para el tratamiento y/o la prevención de estados de enfermedad que cursan con mediación de oxitocina, e incluyen el parto anticipado, los alumbramientos prematuros y la dismenorrea.

15 **Fundamento de la invención**

La oxitocina (OT) es un nonapéptido cíclico cuyas acciones cursan con mediación de la activación de receptores específicos asociados a la proteína G, clasificados actualmente como receptores de OT (OT-R) (1).

La oxitocina (OT) ocasiona la contracción del útero de los mamíferos durante el parto. El receptor de oxitocina correspondiente pertenece a la familia de receptores asociados a la proteína G y es similar a los receptores de la vasopresina V_1 y V_2 . Los receptores de OT aumentan espectacularmente durante el curso del embarazo. Se ha puesto de manifiesto que la concentración de los receptores de OT está relacionada con la actividad uterina espontánea (2-3). Las contracciones del útero inducidas por OT durante el parto, dan por resultado la dilatación de la cervix y finalmente el movimiento del feto a través del canal vaginal. En algunos casos, estas contracciones tienen lugar antes de que el feto sea totalmente viable, lo que da por resultado el parto prematuro. El parto prematuro y el alumbramiento prematuro son indeseados ya que son las causas principales de la morbilidad perinatal. Por tanto, el gobierno del parto prematuro representa un problema importante en el campo de la obstetricia.

En los últimos años, se ha acumulado una evidencia importante que indica que la oxitocina hormonal desempeña un papel principal en la iniciación del parto en los mamíferos, en particular en los seres humanos. Por ello, se supone que la oxitocina ejerce dicho efecto de un modo directo y también indirecto, por contracción del miometrio uterino y por intensificación de la síntesis y la liberación de prostaglandinas contráctiles desde el endometrio/decidua uterino. Estas prostaglandinas pueden, además, desempeñar un papel importante en el proceso de maduración cervical. Esta "regulación al alza" de los receptores de oxitocina y de la sensibilidad uterina aumentada parece deberse a efectos tróficos de los niveles plasmáticos crecientes de estrógeno hacia el término. Se supone que mediante la "regulación en descenso" de la oxitocina, ambos efectos de la oxitocina sobre el útero, el directo (contráctil) y el indirecto (síntesis aumentada de prostaglandina), pudieran ser bloqueados. Un modulador de la oxitocina, por ejemplo, un bloqueante o antagonista, probablemente podría ser eficaz para tratar el parto prematuro.

Otro estado relacionado con la oxitocina es la dismenorrea, que se caracteriza por dolor o incomodidad asociados con la menstruación. Se piensa que el dolor resulta de contracciones uterinas e isquemia, mediadas, probablemente, por el efecto de las prostaglandinas producidas en el endometrio secretor. Mediante el bloqueo de los efectos indirecto y directo de la oxitocina sobre el útero, un antagonista de la oxitocina sería, probablemente, un candidato para el tratamiento de la dismenorrea.

Algunos agentes que contrarrestan la acción de la oxitocina se usan actualmente en estudios clínicos (4). Tales agentes tocolíticos (es decir, agentes de relajación uterina) incluyen agonistas beta-2-adrenérgicos, el sulfato magnésico y el etanol. El agonista beta 2-adrenérgico principal es la Ritodrina, que ocasiona varios efectos secundarios cardiovasculares y metabólicos, que incluyen taquicardias, secreción aumentada de renina, hiperglucemia e hipoglucemia reactiva en el niño. Otros agonistas beta-2-adrenérgicos que incluyen la terbutalina y el albuterol, ejercen efectos secundarios similares a los de la ritodrina. El sulfato magnésico en concentraciones plasmáticas superiores a las del intervalo terapéutico de 4 a 8 mg/dl, pueden causar inhibición de la conducción cardíaca y la transmisión neuromuscular, depresión respiratoria y paro cardíaco, lo que hace inadecuados estos agentes cuando la función renal está dañada. El etanol es tan eficaz como la ritodrina para prevenir el parto prematuro, pero no produce una disminución correspondiente en la incidencia del agotamiento respiratorio fetal que causa la administración de ritodrina.

El atosiban, un antagonista peptídico de la OT, adolece del problema de la mayoría de los péptidos: baja biodisponibilidad oral resultante de degradación intestinal. Tales compuestos deben ser administrados por vía parenteral.

Se supone que el desarrollo de ligandos no peptídicos para receptores hormonales peptídicos supere este problema. Antagonistas de oxitocina selectivos de pequeña magnitud molecular han sido indicados por Merck. Además de hexapéptidos cíclicos, Merck ha sugerido indanilpiperidinas y tolilpiperazinas como antagonistas de OT administrables por vía oral (5). En el documento WO 96/22775 y el documento US-5.756.497, Merck ha indicado benzoxazinilpiperidinas y benzoxazinonas como antagonistas de receptores de OT.

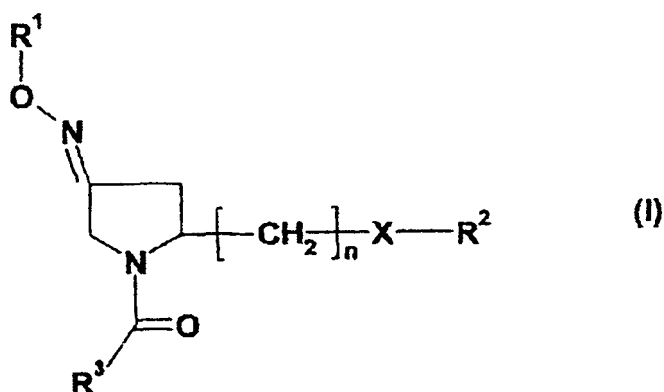
Se ha indicado que sulfonamidas específicas antagonizan la oxitocina en el receptor de oxitocina. Los documentos EP-A-0469984 y EP-A-0526348 de Elf Sanofi, informan de N-sulfonil-indolinas que actúan como antagonistas de la vasopresina y de los receptores de oxitocina.

La patente de EE.UU. 5.889.001 otorgada a American Cyanamid reivindica derivados pirazólicos de benzodiazepina como antagonistas de la vasopresina y la oxitocina.

Derivados de pirrolidina recientes, tales como amidas de pirrolidina y pirrolidinas sustituidas con grupos heteroarilo fusionados, han sido desarrolladas como antagonistas de receptores de oxitocina (documento WO 01/72705).

Sumario de la invención

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



En la fórmula (I), R¹ está seleccionado entre el grupo que consiste en H y alquilo de C₁-C₆ sustituido o sin sustituir. Preferiblemente R¹ es H o metilo.

En la fórmula (I) R² está seleccionado entre el grupo que consiste en hidrógeno, alquilo de C₁-C₆ sustituido o sin sustituir, aril-alquilo de C₁-C₆ sustituido o sin sustituir, heteroarilo sustituido o sin sustituir, heteroaril-alquilo de C₁-C₆ sustituido o sin sustituir, alqueno de C₂-C₆ sustituido o sin sustituir, aril-alqueno de C₂-C₆ sustituido o sin sustituir, heteroaril-alqueno de C₂-C₆ sustituido o sin sustituir, alquino de C₂-C₆ sustituido o sin sustituir, aril-alquino de C₂-C₆ sustituido o sin sustituir, heteroaril-alquino de C₂-C₆ sustituido o sin sustituir, cicloalquilo de C₃-C₈ sustituido o sin sustituir, heterocicloalquilo sustituido o sin sustituir, cicloalquil-alquilo de C₁-C₆ sustituido o sin sustituir, heterocicloalquil-alquilo de C₁-C₆ sustituido o sin sustituir, carboxi-alquilo de C₁-C₆ sustituido o sin sustituir, acilo, acil-alquilo de C₁-C₆ sustituido o sin sustituir, aciloxi-alquilo de C₁-C₆ sustituido o sin sustituir, alcoxi-alquilo de C₁-C₆ sustituido o sin sustituir, alcocarbonilo, alcocarbonil-alquilo de C₁-C₆ sustituido o sin sustituir, aminocarbonilo, aminocarbonil-alquilo de C₁-C₆ sustituido o sin sustituir, acilamino-alquilo de C₁-C₆ sustituido o sin sustituir, ureido-alquilo de C₁-C₆ sustituido o sin sustituir, amino-alquilo de C₁-C₆ sustituido o sin sustituir, sulfonilo, sulfonil-alquilo de C₁-C₆ sustituido o sin sustituir, sulfinilo, sulfinil-alquilo de C₁-C₆ sustituido o sin sustituir, sulfanil-alquilo de C₁-C₆ sustituido o sin sustituir y sulfonilamino-alquilo de C₁-C₆ sustituido o sin sustituir.

R³ en la fórmula (I) está seleccionado entre el grupo que consiste en arilo sustituido o sin sustituir y heteroarilo sustituido o sin sustituir,

X en la fórmula (I) está seleccionado entre el grupo que consiste en O ó NR⁴. R⁴ está seleccionado entre el grupo que consiste en H, alquilo de C₁-C₆ sustituido o sin sustituir, arilo sustituido o sin sustituir, heteroarilo sustituido o sin sustituir, aril-alquilo de C₁-C₆ sustituido o sin sustituir, heteroaril-alquilo de C₁-C₆ sustituido y sin sustituir. Preferiblemente, R⁴ es H ó alquilo de C₁-C₆, tal como un grupo metilo o etilo.

Alternativamente, R³ y R⁴ en la fórmula (I) pueden formar, junto con el átomo de N al que están unidos, un anillo de heterocicloalquilo, saturado o insaturado, de 5-8 miembros, sustituido o sin sustituir, por ejemplo un resto piperidinilo o piperazinilo, que puede estar fusionado, opcionalmente, con un anillo de arilo, heteroarilo, cicloalquilo o heterocicloalquilo.

n en la fórmula (I) es un número entero desde 1 a 3, más preferido 1 ó 2.

En un segundo aspecto, la presente invención proporciona nuevos derivados de pirrolidina de fórmula I para usar como medicamento.

ES 2 330 841 T3

En un tercer aspecto, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula I junto con un excipiente o un vehículo aceptable desde el punto de vista farmacéutico.

En un cuarto aspecto, la invención proporciona un compuesto de fórmula I para preparar una composición farmacéutica, útil para el tratamiento y/o la prevención del parto anticipado, el alumbramiento prematuro y la dismenorrea.

En un quinto aspecto, la invención proporciona un compuesto según la fórmula I, para modular la función del receptor de OT.

En un sexto aspecto, la invención proporciona el uso de un compuesto de fórmula I para el tratamiento de una enfermedad asociada con el receptor de OT tal como el parto anticipado, el alumbramiento prematuro y la dismenorrea.

En un séptimo aspecto, la invención proporciona un método de tratamiento de una enfermedad asociada con el receptor de OT tal como el parto anticipado, el alumbramiento prematuro y la dismenorrea, que comprende administrar a un paciente necesitado de ello, una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula I.

En un octavo aspecto, la invención proporciona un método de síntesis de un compuesto según la fórmula I.

Descripción detallada de la invención

Es un objeto de la presente invención proporcionar sustancias adecuadas para el tratamiento y/o prevención del parto anticipado, el alumbramiento prematuro y la dismenorrea.

Es, notablemente, un objeto de la presente invención proporcionar compuestos químicos capaces de regular a la baja, incluyendo antagonizar, la función de OT en estados de enfermedad en mamíferos, en especial en seres humanos.

También es un objeto de la presente invención proporcionar compuestos químicos de pequeña magnitud molecular para la modulación, preferiblemente la regulación a la baja o antagonización, del receptor de oxitocina.

Además, es un objeto de la presente invención proporcionar métodos para preparar dichos compuestos químicos de pequeña magnitud molecular. Es, además, un objeto de la presente invención proporcionar una nueva categoría de formulaciones farmacéuticas para el tratamiento del parto anticipado y de la dismenorrea, y/o de enfermedades que cursan con mediación del receptor de oxitocina.

Finalmente, es un objeto de la presente invención proporcionar un método para el tratamiento y/o la prevención de trastornos que cursan con mediación del receptor de oxitocina, tales como el parto anticipado con antagonistas de oxitocina, que actúan, por ejemplo, antagonizando la unión de oxitocina a su receptor.

Los párrafos que siguen proporcionan definiciones de los diversos grupos químicos que constituyen los compuestos según la invención, y están destinados a aplicarse uniformemente en toda la memoria descriptiva y en las reivindicaciones, a menos que una definición especificada expresamente de otro modo proporcione una definición más amplia.

“Alquilo de C₁-C₆” se refiere a grupos alquilo monovalentes que tienen 1 a 6 átomos de carbono. Esta expresión es puesta de ejemplo por grupos tales como metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo, terc-butilo, n-hexilo y semejantes.

“Ariilo” se refiere a un grupo carbocíclico aromático insaturado de desde 6 a 14 átomos de carbono que posee un único anillo (por ejemplo, fenilo) o múltiples ciclos condensados (por ejemplo, naftilo). Los grupos ariilo preferidos incluyen fenilo, naftilo, fenantrenilo y semejantes.

“Ariil-alquilo de C₁-C₆” se refiere a grupos alquilo de C₁-C₆ que poseen un sustituyente ariilo, incluyendo bencilo, fenetilo y semejante,

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

“Heteroaril-alquilo de C₁-C₆” se refiere a grupos alquilo de C₁-C₆ que poseen un sustituyente heteroarilo e incluyen 2-furilmetilo, 2-tienilmetilo, 2-(1H-indol-3-il)etilo y semejantes.

ES 2 330 841 T3

“Alquenilo de C₂-C₆” se refiere a grupos alquenilo, que tienen, preferiblemente, desde 2 a 6 átomos de carbono y que poseen por lo menos 1 ó 2 sitios de insaturación alquénica. Preferiblemente los grupos alquenilo incluyen etenilo (-CH=CH₂), n-2-propenilo (alilo, -CH₂CH=CH₂) y semejantes.

5 “Aril-alquenilo de C₂-C₆” se refiere a grupos alquenilo de C₂-C₆ que tienen un sustituyente arilo, incluyendo 2-fenilvinilo y semejantes.

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

10 “Alquinilo de C₂-C₆” se refiere a grupos alquinilo que tienen, preferiblemente, desde 2 a 6 átomos de carbono y que poseen al menos 1-2 sitios de insaturación alquínica. Los grupos alquinilo preferidos incluyen etinilo (-C≡CH), propargilo (-CH₂C≡CH), y semejantes.

15 “Aril-alquinilo de C₂-C₆” se refiere a grupos alquinilo de C₂-C₆ que tienen un sustituyente arilo, incluyendo feniletinilo y semejantes.

“Heteroaril-alquinilo de C₂-C₆” se refiere a grupos alquinilo de C₂-C₆ que tienen un sustituyente heteroarilo, e incluyen 2-tieniletinilo y semejantes.

20 “Cicloalquilo de C₃-C₈” se refiere a un grupo carbocíclico saturado de desde 3 a 8 átomos de carbono que posee un anillo único (por ejemplo, ciclohexilo) o varios anillos condensados (por ejemplo, norbornilo). El cicloalquilo preferido incluye ciclopentilo, ciclohexilo, norbornilo y semejantes.

25 “Heterocicloalquilo” se refiere a un grupo cicloalquilo de C₃-C₈ según la definición anterior, en el que hasta 3 átomos de carbono están reemplazados por heteroátomos escogidos entre el grupo que consiste en O, S y NR, definiéndose R como hidrógeno o metilo. El heterocicloalquilo preferido incluye pirrolidina, piperidina, piperazina, 1-metilpiperazina, morfolina, y semejantes.

30 “Cicloalquil-alquilo de C₁-C₆” se refiere a grupos alquilo que poseen un sustituyente cicloalquilo, e incluyen ciclohexilmetilo, ciclopentilpropilo, y semejantes.

“Heterocicloalquil-alquilo de C₁-C₆” se refiere a grupos alquilo de C₁-C₆ que poseen un sustituyente heterocicloalquilo, e incluyen 2-(1-pirrolidinil)etilo, 4-morfolinilmetilo, (1-metil-4-piperidinil)metilo, y semejantes.

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

“Carboxi-alquilo de C₁-C₆” se refiere a grupos alquilo de C₁-C₆ que tienen un sustituyente carboxi, e incluyen 2-carboxietilo y semejantes.

40 “Acilo” se refiere al grupo -C(O)R en cuya fórmula R incluye “alquilo de C₁-C₆”, “arilo”, “heteroarilo”, “aril-alquilo de C₁-C₆” o “heteroaril-alquilo de C₁-C₆”.

45 “Acil-alquilo de C₁-C₆” se refiere a grupos alquilo de C₁-C₆ que poseen un sustituyente acilo, e incluyen 2-acetiletilo y semejantes.

“Aciloxi” se refiere al grupo -OC(O)R en cuya fórmula R incluye “alquilo de C₁-C₆”, “arilo”, “heteroarilo”, “aril-alquilo de C₁-C₆” o “heteroaril-alquilo de C₁-C₆”.

50 “Aciloxi-alquilo de C₁-C₆” se refiere a grupos alquilo de C₁-C₆ que poseen un sustituyente aciloxi, e incluyen 2-(acetiloxi)etilo y semejantes.

55 “Alcoxi” se refiere al grupo -O-R, en el que R incluye “alquilo de C₁-C₆” o “arilo” o “heteroarilo” o “aril-alquilo de C₁-C₆” o “heteroaril-alquilo de C₁-C₆”. Los grupos alcoxi preferidos incluyen, por ejemplo, metoxi, etoxi, fenoxi y semejantes.

“Alcoxi-alquilo de C₁-C₆” se refiere a grupos alquilo de C₁-C₆ que poseen un sustituyente alcoxi, e incluyen 2-etoxietilo y semejantes.

60 “Alcoxycarbonilo” se refiere al grupo -C(O)OR en el que R incluye H, “alquilo de C₁-C₆” o “arilo” o “heteroarilo” o “aril-alquilo de C₁-C₆” o “heteroaril-alquilo de C₁-C₆”.

“Alcoxycarbonil-alquilo de C₁-C₆” se refiere a grupos alquilo de C₁-C₆ que poseen un sustituyente alcoxycarbonilo, e incluyen 2-(benciloxycarbonil)etilo, y semejantes.

65 “Aminocarbonilo” se refiere al grupo -C(O)NRR' en el que cada R y R' incluye, independientemente, hidrógeno o alquilo de C₁-C₆ o arilo o heteroarilo o “aril-alquilo de C₁-C₆” o “heteroaril-alquilo de C₁-C₆”.

ES 2 330 841 T3

“Aminocarbonil-alquilo de C₁-C₆” se refiere a grupos “alquilo de C₁-C₆” que poseen un sustituyente aminocarbonilo, e incluyen 2-(dimetilaminocarbonil)etilo y semejantes.

5 “Acilamino” se refiere al grupo -NRC(O)R’ en el que cada R y R’ es, independientemente, hidrógeno o “alquilo de C₁-C₆” o “arilo” o “heteroarilo” o “aril-alquilo de C₁-C₆” o “heteroaril-alquilo de C₁-C₆”.

“Acilamino-alquilo de C₁-C₆” se refiere a grupos alquilo que poseen un sustituyente acilamino, e incluyen 2-(propionilamino)etilo y semejantes.

10 “Ureido” se refiere al grupo -NRC(O)NR’R” en el que cada uno de R, R’, y R” es, independientemente, hidrógeno, “alquilo de C₁-C₆”, “alquenilo de C₂-C₆”, “alquinilo de C₂-C₆”, “cicloalquilo de C₃-C₈”, “heterocicloalquilo”, “arilo”, “heteroarilo”, “aril-alquilo de C₁-C₆” o “heteroaril-alquilo de C₁-C₆”, “aril-alquenilo de C₂-C₆”, “heteroaril-alquenilo de C₂-C₆”, “aril-alquinilo de C₂-C₆”, “heteroaril-alquinilo de C₂-C₆”, “cicloalquil-alquilo de C₁-C₆”, “heterocicloalquil-alquilo de C₁-C₆”, y donde R’ y R” junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos, pueden formar, opcionalmente, un anillo de heterocicloalquilo de 3-8 miembros.

“Ureido-alquilo de C₁-C₆” se refiere a grupos alquilo de C₁-C₆ que poseen un sustituyente ureido, e incluyen 2-(N’-metilureido)etilo y semejantes.

20 “Carbamato” se refiere al grupo -NRC(O)OR’ en el que cada uno de R y R’ es, independientemente, hidrógeno, “alquilo de C₁-C₆”, “alquenilo de C₂-C₆”, “alquinilo de C₂-C₆”, “cicloalquilo de C₃-C₈”, “heterocicloalquilo”, “arilo”, “heteroarilo”, “aril-alquilo de C₁-C₆” o “heteroaril-alquilo de C₁-C₆”, “aril-alquenilo de C₂-C₆”, “heteroaril-alquenilo de C₂-C₆”, “aril-alquinilo de C₂-C₆”, “heteroaril-alquinilo de C₂-C₆”, “cicloalquil-alquilo de C₁-C₆”, “heterocicloalquil-alquilo de C₁-C₆”.

25 “Amino” se refiere al grupo -NRR’. en el que cada uno de R y R’ es, independientemente, hidrógeno o “alquilo de C₁-C₆” o “arilo” o “heteroarilo” o “aril-alquilo de C₁-C₆” o “heteroaril-alquilo de C₁-C₆”. o “cicloalquilo”, o “heterocicloalquilo”, y en el que R y R’, junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos, pueden formar, opcionalmente, un anillo de heterocicloalquilo de 3-8 miembros.

30 “Amino-alquilo de C₁-C₆” se refiere a grupos alquilo de C₁-C₆ que poseen un sustituyente amino, e incluyen 2-(1-pirrolidinil)etilo y semejantes.

35 “Amonio” se refiere a un grupo -N⁺RR’R” cargado positivamente, en el que cada uno de R, R’ y R” es, independientemente, “alquilo de C₁-C₆” o “aril-alquilo de C₁-C₆” o “heteroaril-alquilo de C₁-C₆” o “cicloalquilo” o “heterocicloalquilo”, y en el que R y R’, junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos, pueden formar, opcionalmente, un anillo de heterocicloalquilo de 3-8 miembros.

40 “Halógeno” se refiere a átomos de fluoro, cloro, bromo y yodo.

“Sulfoniloxi” se refiere a un grupo -OSO₂-R, en el que R está seleccionado entre H, “alquilo de C₁-C₆”, “alquilo de C₁-C₆” sustituido con halógenos, por ejemplo, un grupo -OSO₂-CF₃, “arilo”, “heteroarilo”, “aril-alquilo de C₁-C₆” o “heteroaril-alquilo de C₁-C₆”.

45 “Sulfoniloxi-alquilo de C₁-C₆” se refiere a grupos alquilo de C₁-C₆ que poseen un sustituyente sulfoniloxi, e incluyen 2-(metilsulfoniloxi)etilo y semejantes.

50 “Sulfonilo” se refiere a un grupo “-SO₂-R” en el que R está seleccionado entre H, “arilo”, “heteroarilo”, “alquilo de C₁-C₆”, “alquilo de C₁-C₆” sustituido con halógenos, por ejemplo, un grupo -SO₂-CF₃, “aril-alquilo de C₁-C₆” o “heteroaril-alquilo de C₁-C₆”.

“Sulfonil-alquilo de C₁-C₆” se refiere a grupos alquilo de C₁-C₆ que poseen un sustituyente sulfonilo, e incluyen 2-metilsulfonil)etilo y semejantes.

55 “Sulfinilo” se refiere a un grupo “-S(O)-R” en el que R está seleccionado entre H, “alquilo de C₁-C₆”, “alquilo de C₁-C₆” sustituido con halógenos, por ejemplo, un grupo -SO-CF₃, “arilo”, “heteroarilo”, “aril-alquilo de C₁-C₆” o “heteroaril-alquilo de C₁-C₆”.

60 “Sulfinil-alquilo de C₁-C₆” se refiere a grupos alquilo de C₁-C₆ que poseen un sustituyente sulfinilo, e incluyen 2-(metilsulfinil)etilo y semejantes.

“Sulfanilo” se refiere a grupos -S-R en los que R incluye “alquilo de C₁-C₆” o “arilo” o “heteroarilo” o “aril-alquilo de C₁-C₆” o “heteroaril-alquilo de C₁-C₆”. Los grupos sulfanilo preferidos incluyen metilsulfanilo, etilsulfanilo y semejantes.

65 “Sulfanil-alquilo de C₁-C₆” se refiere a grupos alquilo de C₁-C₆ que poseen un sustituyente sulfanilo, e incluyen 2.(etilsulfanil)etilo y semejantes.

“Sulfonilamino” se refiere a un grupo $-NRSO_2-R'$ en el que cada uno de R y R' es, independientemente, hidrógeno o “alquilo de C_1-C_6 ” o “arilo” o “heteroarilo” o “aril-alquilo de C_1-C_6 ” o “heteroaril-alquilo de C_1-C_6 ”.

5 “Sulfonilamino-alquilo de C_1-C_6 ” se refiere a grupos alquilo que poseen un sustituyente sulfonilamino, e incluyen 2-(etilsulfonilamino)etilo y semejantes..

10 “Sustituido o sin sustituir”: A menos que venga obligado por la definición del sustituyente individual, los grupos especificados anteriormente, tales como “alquilo”, “alquenilo”, “alquinilo”, “arilo” y “heteroarilo”, etc. pueden estar sustituidos, opcionalmente, con desde 1 a 5 sustituyentes seleccionados entre el grupo que consiste en “alquilo de C_1-C_6 ”, “alquenilo de C_2-C_6 ”, “alquinilo de C_2-C_6 ”, “cicloalquilo”, “heterocicloalquilo”, “aril-alquilo de C_1-C_6 ”, “heteroaril-alquilo de C_1-C_6 ”, “cicloalquil-alquilo de C_1-C_6 ”, “heterocicloalquil-alquilo de C_1-C_6 ”, “amino”, “amonio”, “acilo”, “aciloxi”, “acilamino”, “aminocarbonilo”, “alcoxycarbonilo”, “ureido”, “carbamato”, “arilo”, “heteroarilo”, “sulfinilo”, “sulfonilo”, “alcoxi”, “sulfanilo”, “halógeno”, “carboxi”, trihalometilo, ciano, hidroxilo, mercapto, nitro, y semejantes. Alternativamente, dicha sustitución podría comprender también situaciones en las que sustituyentes vecinos hayan sufrido cierre de anillo, en especial cuando sustituyentes funcionales vicinales estén implicados, formando de este modo, por ejemplo, lactamas, lactonas, anhídridos cíclicos, y también acetales, tioacetales, aminaes formados mediante cierre de anillo, por ejemplo, con el esfuerzo de obtener un grupo protector.

20 “Sales o complejos farmacéuticamente aceptables” se refiere a sales o complejos de los compuestos especificados más adelante, de fórmula (I). Ejemplos de tales sales incluyen, aun cuando no está restringido a ellas, sales de adición de base, formadas mediante reacción de compuestos de fórmula (I) con bases orgánicas o inorgánicas, tales como hidróxido, carbonato o bicarbonato de un catión metálico tal como los seleccionados entre el grupo que consiste en metales alcalinos (sodio, potasio o litio), metales alcalinotérreos (por ejemplo, calcio o magnesio), o con una alquilamina orgánica primaria, secundaria o terciaria. Sales de amina derivadas de metilamina, dimetilamina, trimetilamina, etilamina, dietilamina, trietilamina, morfolina, N-Me-D-glucamina, N,N'-bis(fenilmetil)-1,2-etanodiamina, trometamina, etanolamina, dietanolamina, etilendiamina, N-metilmorfolina, procaina, piperidina, piperazina y semejantes, se contempla que se encuentran dentro del alcance de la presente invención.

30 También están comprendidas sales que están formadas partiendo de sales de adición de ácido formadas con ácidos inorgánicos (por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido nítrico, y semejantes), así como también sales formadas con ácidos orgánicos tales como ácido acético, ácido oxálico, ácido tartárico, ácido succínico, ácido málico, ácido fumárico, ácido maleico, ácido ascórbico, ácido benzoico, ácido tánico, ácido pámico, ácido algínico, poli(ácido glutámico), ácido naftalenosulfónico, ácido naftalenodisulfónico y ácido poli-galacturónico.

35 “Derivado farmacéuticamente activo” se refiere a un compuesto que por administración al receptor, es capaz de proporcionar directa o indirectamente, la actividad descrita en esta memoria.

40 “Exceso enantiomérico” (ee) se refiere a los productos que se obtienen mediante una síntesis asimétrica, es decir, una síntesis que lleva consigo materiales y/o reactivos de partida no racémicos o una síntesis que comprende por lo menos una etapa enantioselectiva. “ee” es el tanto por ciento de exceso del enantiómero mayor frente al enantiómero menor [% ee= %mayor-%menor]. En ausencia de una síntesis asimétrica se obtienen, habitualmente, productos racémicos que, sin embargo, poseen también actividad como antagonistas de OT-R.

45 La expresión “parto anticipado” o la expresión “parto prematuro” significan la expulsión desde el útero de un niño antes del término normal de gestación o, más particularmente, el inicio del parto con borradura y dilatación de la cervix antes de la 37ª semana de gestación. Puede estar asociado o no con hemorragia vaginal o rotura de las membranas.

50 El término “dismenorrea” significa menstruación dolorosa.

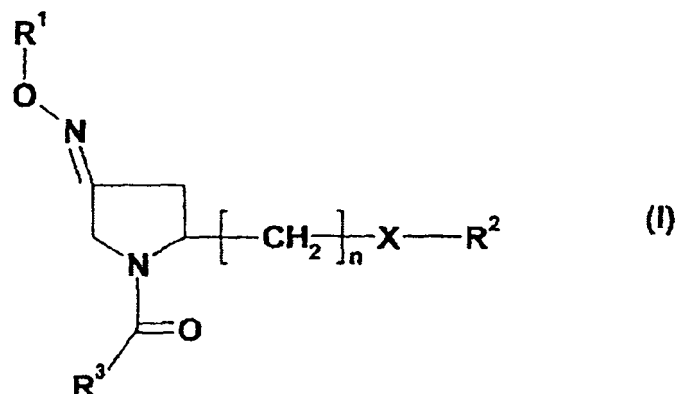
La expresión “alumbramiento cesáreo” significa incisión a través de las paredes abdominal y uterina para la liberación de un feto.

55 La presente invención incluye también los isómeros geométricos, las formas ópticamente activas, enantiómero y diastereoisómeros de compuestos según la fórmula I, mezclas de estos, racematos y también sales farmacéuticamente aceptables.

60

65

Los compuestos según la presente invención son los de fórmula I



En la fórmula (I), R¹ está seleccionado entre el grupo que consiste en H y alquilo de C₁-C₆ sustituido o sin sustituir. Preferiblemente R¹ es H o metilo.

En la fórmula (I) R² está seleccionado entre el grupo que consiste en hidrógeno, alquilo de C₁-C₆ sustituido o sin sustituir, aril-alquilo de C₁-C₆ sustituido o sin sustituir, heteroarilo sustituido o sin sustituir, heteroaril-alquilo de C₁-C₆ sustituido o sin sustituir, alqueno de C₂-C₆ sustituido o sin sustituir, aril-alqueno de C₂-C₆ sustituido o sin sustituir, heteroaril-alqueno de C₂-C₆ sustituido o sin sustituir, alquino de C₂-C₆ sustituido o sin sustituir, aril-alquino de C₂-C₆ sustituido o sin sustituir, heteroaril-alquino de C₂-C₆ sustituido o sin sustituir, cicloalquilo de C₃-C₈ sustituido o sin sustituir, heterocicloalquilo sustituido o sin sustituir, cicloalquil-alquilo de C₁-C₆ sustituido o sin sustituir, heterocicloalquil-alquilo de C₁-C₆ sustituido o sin sustituir, carboxi-alquilo de C₁-C₆ sustituido o sin sustituir, acilo, acil-alquilo de C₁-C₆ sustituido o sin sustituir, aciloxi-alquilo de C₁-C₆ sustituido o sin sustituir, alcoxi-alquilo de C₁-C₆ sustituido o sin sustituir, alcocarbonilo, alcocarbonil-alquilo de C₁-C₆ sustituido o sin sustituir, aminocarbonilo, aminocarbonil-alquilo de C₁-C₆ sustituido o sin sustituir, acilamino-alquilo de C₁-C₆ sustituido o sin sustituir, ureido-alquilo de C₁-C₆ sustituido o sin sustituir, amino-alquilo de C₁-C₆ sustituido o sin sustituir, sulfoniloxi-alquilo de C₁-C₆ sustituido o sin sustituir, sulfonilo, sulfonil-alquilo de C₁-C₆ sustituido o sin sustituir, sulfinilo, sulfinil-alquilo de C₁-C₆ sustituido o sin sustituir, sulfanil-alquilo de C₁-C₆ sustituido o sin sustituir y sulfonilamino-alquilo de C₁-C₆ sustituido o sin sustituir.

R³ en la fórmula (I) está seleccionado entre el grupo que consiste en arilo sustituido o sin sustituir y heteroarilo sustituido o sin sustituir,

X en la fórmula (I) está seleccionado entre el grupo que consiste en O ó NR⁴, en cuya fórmula R⁴ está seleccionado entre el grupo que consiste en H, alquilo de C₁-C₆ sustituido o sin sustituir, arilo sustituido o sin sustituir, heteroarilo sustituido o sin sustituir, aril-alquilo de C₁-C₆ sustituido o sin sustituir, y heteroaril-alquilo de C₁-C₆ sustituido o sin sustituir. Preferiblemente, R⁴ es H ó alquilo de C₁-C₆, tal como un grupo metilo o etilo.

Alternativamente, R³ y R⁴ en la fórmula (I) pueden formar, junto con el átomo de N al que están unidos, un anillo de heterocicloalquilo, saturado o insaturado, de 5-8 miembros, sustituido o sin sustituir, por ejemplo un grupo piperidinilo o piperazinilo, que puede estar fusionado, opcionalmente, con un anillo de arilo, heteroarilo, cicloalquilo o heterocicloalquilo.

n en la fórmula (I) es un número entero desde 1 a 3, más preferido 1 ó 2.

R² preferidos en los compuestos según la fórmula I, son aquellos que están seleccionados entre el grupo que consiste en H, acilo, preferiblemente un grupo acetilo, un grupo arilo, opcionalmente sustituido con un grupo alcoxi de C₁ a C₆ sustituido o sin sustituir, por ejemplo, un grupo metiloxi-fenilo, un grupo alquilo de C₁-C₃ tal como metilo o etilo, opcionalmente sustituido con un grupo acilo o un grupo éster sustituido o sin sustituir, preferiblemente un éster t-butilico del ácido fórmico o del ácido acético, N-(2-pirrolidin-1-il-etil)acetamida y, preferiblemente, N-pirazol opcionalmente sustituido con un grupo heteroarilo sustituido o sin sustituir.

R³ preferidos en los compuestos según la fórmula I, son aquellos que están seleccionados entre el grupo que consiste en grupos arilo opcionalmente sustituidos con un grupo arilo sustituido o sin sustituir. El R³ particularmente preferido es un grupo bifenilo o un grupo 2-metil-bifenilo.

Una realización particularmente preferida de la presente invención es un derivado de pirrolidina según la fórmula I, en la que X es O ó NH, y n es 1 ó 2.

Otra realización preferida de la presente invención es un derivado de pirrolidina según la fórmula I, en la que X es NR⁴ y en la que R⁴ y R² forman un anillo heterocíclico saturado o insaturado, sustituido o sin sustituir, fusionado o sin fusionar, con el átomo de N al que están unidos, preferiblemente un anillo de 5 ó 6 miembros, más preferiblemente una piperidina, una metilpiperazina o una isoindol-1,3-diona.

Los compuestos de fórmula I pueden ser usados para el tratamiento de una enfermedad.

Específicamente, los compuestos de fórmula I son adecuados para usar en el tratamiento de trastornos tales como el parto anticipado, el alumbramiento prematuro y la dismenorrea, y para detener el parto antes de la operación cesárea. Los compuestos de la presente invención son particularmente útiles para el tratamiento del parto anticipado, el alumbramiento prematuro y la dismenorrea.

Preferiblemente, los compuestos según la fórmula I, solos o en forma de una composición farmacéutica, son adecuados para la modulación de la función o funciones de la oxitocina, permitiendo específicamente de este modo el tratamiento y/o prevención de trastornos que cursan con mediación del receptor de oxitocina. Tal modulación implica, preferiblemente, la inhibición de la función o funciones del OT-R, en especial mediante la antagonización del receptor de oxitocina en mamíferos, y en particular los seres humanos.

La actividad o hiperactividad anormales del receptor de oxitocina están involucradas frecuentemente en diversas afecciones que incluyen los trastornos y estados de enfermedad anteriormente enumerados. Por tanto, los compuestos según la invención pueden ser usados para el tratamiento de trastornos mediante la modulación de la función o los caminos del OT-R. La modulación de la función o los caminos del OT-R pueden implicar la regulación a la baja y/o la inhibición del receptor de oxitocina. Los compuestos de la invención pueden ser empleados de modo aislado o en combinación con otros agentes farmacéuticos, por ejemplo, con otro modulador del OT-R.

Cuando se emplean como productos farmacéuticos, los derivados de pirrolidina de la presente invención se administran, típicamente, en forma de una composición farmacéutica. Por tanto, las composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de fórmula I y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable, están también dentro del alcance de la presente invención. Los expertos en la técnica son conocedores de una variedad total de tales vehículos, diluentes o excipientes adecuados para formular una composición farmacéutica.

Los compuestos de la invención, junto con un adyuvante, vehículo, diluyente o excipiente empleado convencionalmente, pueden formularse como composiciones farmacéuticas y formas de administración unitarias, y en tal forma pueden emplearse como sólidos, tales como comprimidos o cápsulas llenadas, o líquidos tales como soluciones, suspensiones, elixires o cápsulas llenadas con los mismos, todos para administración oral, o en la forma de soluciones inyectables estériles para administración parenteral (incluyendo la vía subcutánea). Tales composiciones farmacéuticas y formas de administración unitarias de los mismos, pueden comprender ingredientes en las proporciones convencionales, con o sin compuestos o principios activos adicionales, y tales formas de administración unitarias contienen una cantidad eficaz adecuada del ingrediente activo en proporción con el intervalo de dosis diaria pretendida que haya de emplearse.

Cuando se emplean como productos farmacéuticos, los derivados de pirrolidina de esta invención se administran típicamente en forma de una composición farmacéutica. Tales composiciones pueden ser preparadas de un modo bien conocido en la técnica farmacéutica y comprenden, por lo menos, un compuesto activo. En general, los compuestos de esta invención son administrados en una cantidad eficaz desde el punto de vista farmacéutico. La cantidad del compuesto administrada realmente será determinada, típicamente, por un médico, a la luz de las circunstancias relevantes, que incluyen el estado que ha de ser tratado, la vía de administración elegida, el compuesto actual a administrar, la edad, el peso y la respuesta del paciente individual, la gravedad de los síntomas del paciente, y circunstancias semejantes.

Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden ser administradas por varias vías que incluyen las vías oral, rectal, transdérmica, subcutánea, intravenosa, intramuscular e intranasal. Dependiendo de la vía de administración pretendida, los compuestos se formulan, preferiblemente, o bien como composiciones inyectables o bien como composiciones para administración por vía oral. Las composiciones para administración por vía oral pueden tomar la forma de soluciones o suspensiones líquidas en gran cantidad o polvos en gran cantidad. Sin embargo, más comúnmente, las composiciones se presentan en formas farmacéuticas unitarias para facilitar la exactitud de la dosificación. La expresión "formas farmacéuticas unitarias" se refiere a unidades físicamente discretas, adecuadas como dosis unitarias para seres humanos y otros mamíferos, cada una de las cuales contiene una cantidad de compuesto activo determinada previamente, calculada para producir el efecto terapéutico deseado, en asociación con un excipiente farmacéutico adecuado. Las formas farmacéuticas unitarias típicas incluyen ampollas o jeringuillas previamente llenadas, premedidas, de las composiciones líquidas, o píldoras, comprimidos, cápsulas o semejantes, en el caso de composiciones sólidas. En tales composiciones el compuesto de pirrolidina es, habitualmente, el componente minoritario (desde aproximadamente 0,1 hasta aproximadamente el 50% en peso o, de preferencia, desde aproximadamente 1 hasta aproximadamente el 40% en peso) siendo el resto diversos vehículos o excipientes y ayudas de tratamiento para dar lugar a la forma farmacéutica deseada.

Las formas líquidas adecuadas para administración oral, pueden incluir un vehículo adecuado, acuoso o no acuoso, junto con agentes de tamponamiento, agentes de suspensión y agentes de dispensación, colorantes, saborizantes y

ES 2 330 841 T3

compuestos semejantes. Las formas sólidas pueden incluir, por ejemplo, cualquiera de los ingredientes que siguen, o compuestos de naturaleza similar; un aglutinante tal como celulosa microcristalina, goma tragacanto o gelatina; un excipiente tal como almidón o lactosa; un agente de desintegración tal como ácido algínico, Primogel, o almidón de maíz; un agente lubricante tal como estearato magnésico; un agente de deslizamiento tal como dióxido de silicio coloidal; un agente edulcorante tal como sacarosa o sacarina; o un agente saborizante tal como menta, salicilato de metilo o sabor de naranja.

Las composiciones inyectables están preparadas, típicamente, a base de solución salina estéril inyectable o solución salina tamponada con fosfato u otros vehículos inyectables conocidos en la técnica. Como se ha citado anteriormente, los derivados de pirrolidina de Fórmula I en tales composiciones, constituyen, típicamente, el componente minoritario, variando frecuentemente entre el 0,05 y el 10% en peso, siendo el resto el vehículo inyectable y semejante.

Los componentes descritos para composiciones administradas por vía oral o composiciones inyectables, son simplemente representativos. Otros materiales así como otras técnicas de procesamiento y semejantes se exponen en la Parte 8 de (6).

Los compuestos de esta invención pueden ser administrados también en formas farmacéuticas de cesión prolongada o desde sistemas de distribución de fármacos de cesión prolongada. Una descripción de materiales de cesión prolongada representativos puede encontrarse también en (6).

Todavía, otro objeto de la presente invención es un procedimiento de preparación de derivados de pirrolidina según la Fórmula I.

Los derivados de pirrolidina que se ponen de ejemplo en esta invención, pueden ser preparados comenzando con materiales de partida de que se dispone fácilmente o que han sido descritos previamente, usando los métodos y procedimientos operatorios generales que siguen. Podrá apreciarse que cuando se indican condiciones experimentales típicas o preferidas (por ejemplo, temperaturas de reacción, tiempos, moles de reactivos, disolventes, etc.) también pueden emplearse otras condiciones experimentales a menos que se establezca de otro modo. Las condiciones óptimas de reacción pueden variar con los reactantes o disolventes particulares usados, pero tales condiciones pueden ser determinadas por los expertos en la técnica mediante procedimientos de optimización rutinarios.

Síntesis de compuestos de la invención

A continuación se describen ejemplos de rutas de síntesis de compuestos de fórmula I.

Las abreviaturas que figuran se refieren, respectivamente, a las definiciones que siguen.

ACN (Acetonitrilo)

Boc (t-butoxicarbonilo)

CDCl₃ (cloroformo deuterado)

cHex (ciclohexano)

DCM (Diclorometano)

DECP (Cianofosfonato de dietilo)

DIC (Diisopropil-carbodiimida)

DIEA (Diisopropiletilamina)

DMAP (4-Dimetilaminopiridina)

DMF (Dimetilformamida)

DMSO (Sulfóxido de dimetilo)

DMSO-d₆ (sulfóxido de dimetilo deuterado)

EDC (1-(3-Dimetil-amino-propil)-3-etilcarbodiimida)

EtOAc (Acetato de etilo)

Et₂O (Éter dietílico)

ES 2 330 841 T3

HATU (Hexafluorofosfonato de O-(7-azabenzotriazol-1-il-N,N',N'-tetrametil-uronio)

K₂CO₃ (Carbonato potásico)

5 MEK (metiletilcetona)

MgSO₄ (sulfato magnésico)

10 NaH (Hidruro de sodio)

NaHCO₃ (Bicarbonato sódico)

nBuLi (N-Butil-litio)

15 NMO (N-metilmorfolina-N-óxido, monohidrato)

PetEther (Éter de petróleo)

20 OMs (O-mesilato = O-metilsulfonato)

OTs (O-tosilato = O-toluenosulfonato)

TBAF (Fluoruro de t-butilamonio)

25 TBDMS (t-butildimetilsililo)

TBTU (Tetrafluoroborato de O-benzotriazol-N,N',N'-tetrametiluronio)

30 TEA (triethylamina)

TFA (Ácido trifluoroacético)

THF (Tetrahidrofurano)

35 TPAP (Per-rutenato de tetrapropilamonio)

rt (Temperatura ambiente)

40

a) Alcoxipirrolidinas

Introducción del grupo R²

45

Los derivados de alcoxipirrolidina conforme a la fórmula general Ia (fórmula I en la que X es O), y en la que R¹, R², R³ y n son como se ha definido para la fórmula I, pueden prepararse a partir de los derivados de pirrolidina correspondientes de fórmula II, en la que R¹, R³ y n son como se ha definido anteriormente. Los derivados de alcoholes de fórmula II se someten a una O-alquilación directa empleando un agente de alquilación adecuado R²-LG, en cuya fórmula LG es un grupo eliminable adecuado que incluye Cl, Br, I u OMs u Ots. Alternativamente, los compuestos de

50

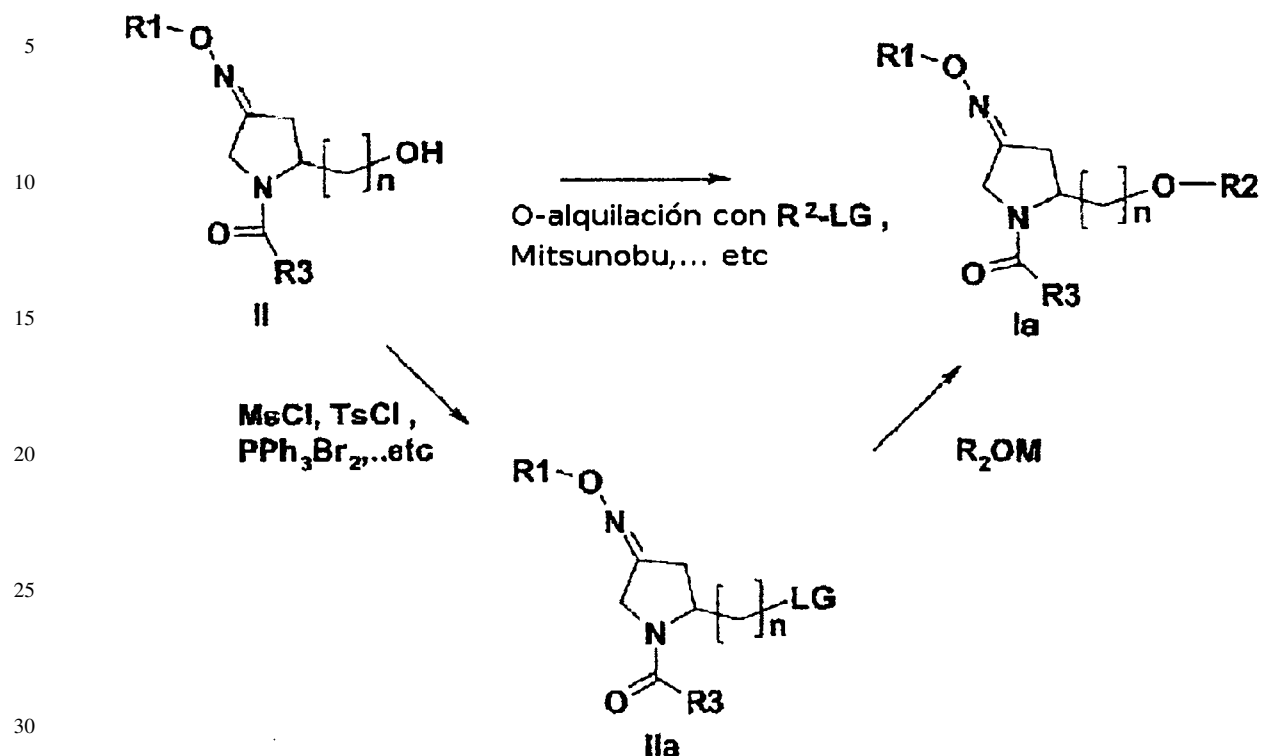
fórmula Ia pueden ser obtenidos mediante una reacción de tipo Mitsunobu según se describe en el Esquema I.

55

60

65

Esquema 1



35 Una ruta alternativa de síntesis de derivados de alcoxipirrolidina según la fórmula general Ia (fórmula I en la que X es O), puede ser la preparación de un intermedio de fórmula general IIa en cuya fórmula R^1 , R^3 , n y LG son como se ha definido anteriormente, por reacción de un alcohol de fórmula II con MsCl, TsCl o un agente de halogenación tal como PPh_3Br_2 . El grupo eliminable LG es desplazado después mediante $R^2\text{OM}$ donde R^2 es como se ha definido anteriormente y M es H o un metal tal como Na, lo que conduce al compuesto de fórmula Ia.

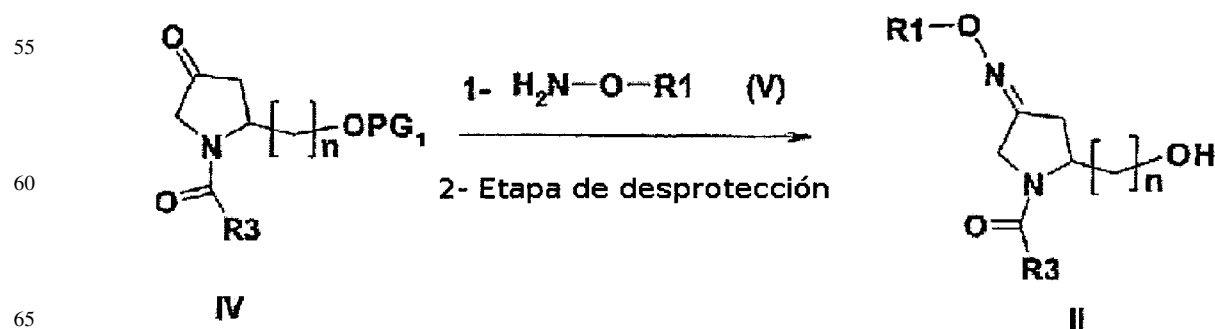
40

Introducción del grupo oxima

45 El compuesto de fórmula general II - en la que R^1 , R^3 y n son como se ha definido anteriormente - puede ser preparado a partir de compuestos de fórmula general IV en la que R^3 y n son como se ha definido anteriormente, y en la que PG_1 es un grupo de protección adecuado del alcohol, preferiblemente un TBDMS. La cetona de fórmula general IV se hace reaccionar con un derivado de hidroxilamina de fórmula general V en la que R^1 es como se ha definido anteriormente. Se separa PG_1 mediante una etapa de desprotección usando técnicas estándar de síntesis como muestra el Esquema 2.

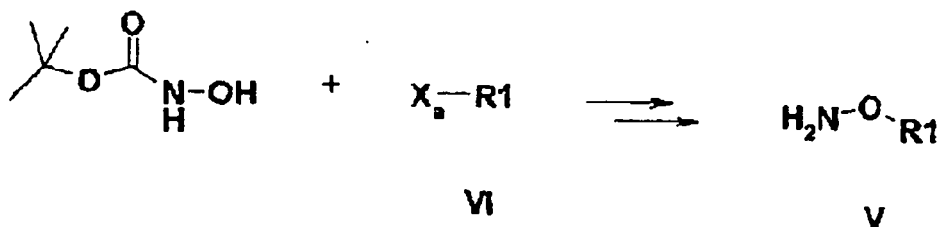
50

Esquema 2



La hidroxilamina V, si no se encontrara disponible en el comercio, puede ser sintetizada, por ejemplo, por reacción de N-Boc-hidroxilamina con el correspondiente agente de alquilación de fórmula VI en la que R^1 es como se ha definido anteriormente, y $X_a = Cl, Br, I$, usando condiciones estándar, según se describe en el Esquema 3.

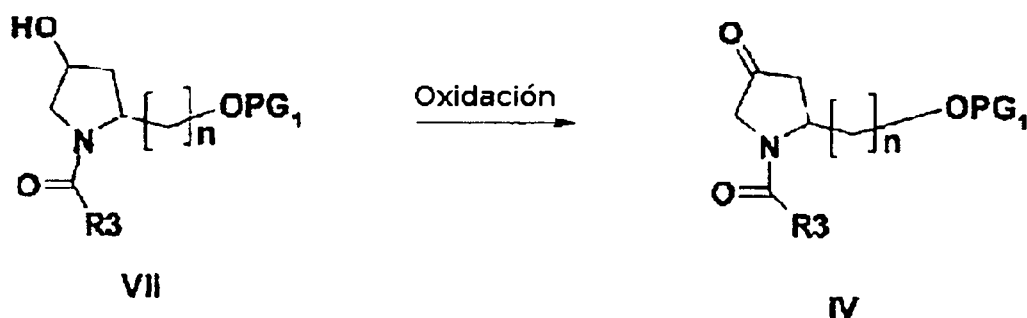
Esquema 3



Formación de cetopirrolidinas

Las cetopirrolidinas de fórmula general IV en la que R^3 , n y PG_1 son como se ha definido anteriormente, pueden ser obtenidas a partir de los derivados de hidroxipirrolidina correspondientes de fórmula VII en la que R^3 , n y PG_1 son como se ha definido anteriormente, por tratamiento con un agente oxidante apropiado, por ejemplo, DMSO/(COCl)₂/TEA (condiciones Swern) o TPAP en presencia de NMO como ilustra el Esquema 4.

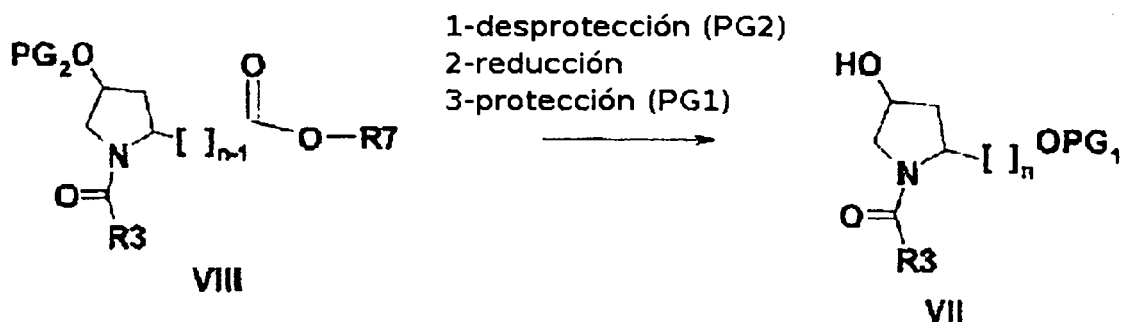
Esquema 4



Etapas de reducción

Los derivados de hidroxipirrolidina de fórmula general VII - en la que R^3 y n son como se ha descrito anteriormente y PG_1 es un grupo protector - pueden obtenerse por reducción de los derivados carboxílicos de pirrolidina correspondientes de fórmula VIII - en la que R^3 y n son como se ha definido anteriormente, R^7 es H o un grupo alquilo y PG_2 es un grupo de protección adecuado - después de etapas de protección/desprotección apropiadas, según se describe en el Esquema 5. El agente reductor preferido es el $LiBH_4$ cuando R^7 es un grupo alquilo, o LAH o BH_3DMS cuando R^7 es H.

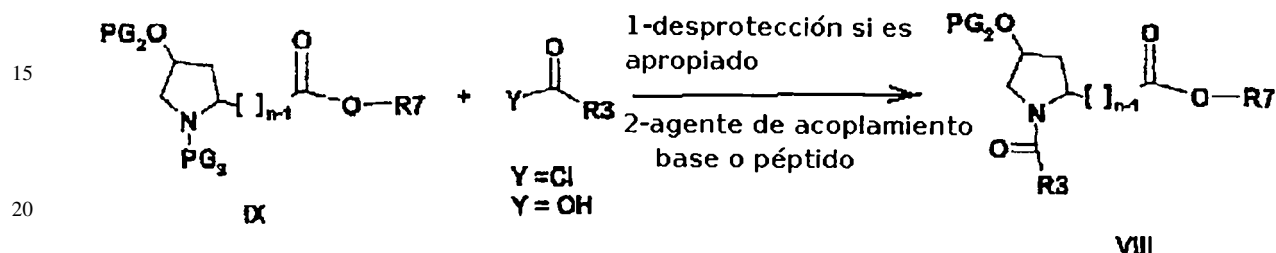
Esquema 5



Etapa de acoplamiento

Los derivados carboxílicos de pirrolidina protegidos de fórmula general VIII en la que R^3 , n , R^7 y PG_2 son como se ha definido anteriormente, se preparan por reacción de un compuesto de fórmula general IX - en la que n , R^7 y PG_2 son como se ha definido anteriormente y PG_3 es H o un grupo adecuado de protección del N, preferiblemente Boc - con un agente de acilación de fórmula general R^3 -CO-Y- en la que R^3 es como se ha definido anteriormente e Y es un grupo eliminable apropiado - según ilustra el Esquema 6.

Esquema 6



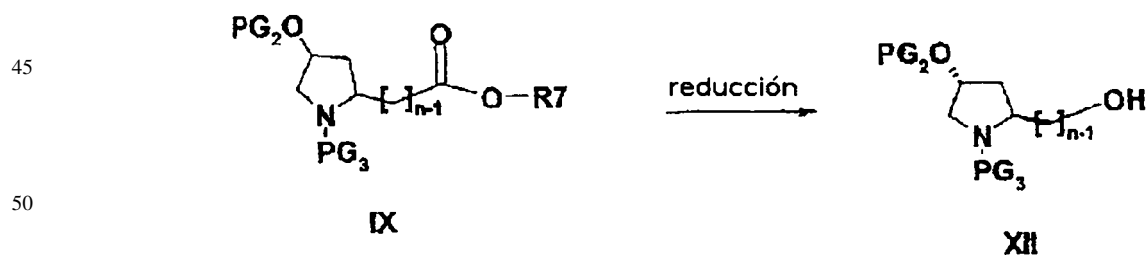
Los agentes de acilación preferidos son cloruros de ácido ($Y = Cl$) o ácidos carboxílicos ($Y = OH$) empleados en conjunción con un agente de acoplamiento peptídico apropiado tal como, por ejemplo, DIC, EDC, HATU, DECP u otros.

En general, los materiales de partida son compuestos de fórmula IX, que pueden ser obtenidos desde fuentes comerciales (por ejemplo, 3-hidroxiprolina, homo-3-hidroxiprolina, ácido 3-hidroxipirrolidina-5-propiónico, protegidos).

Otros materiales de partida (tales como compuestos de fórmula XV, XVI, XIX y XX) pueden ser obtenidos partiendo de compuestos de que se dispone en el comercio, de fórmula IX, mediante intermedios de fórmula XII.

En este caso, en primer lugar los derivados carboxílicos de fórmula general IX pueden ser reducidos a derivados de fórmula general XII en la que PG_2 , PG_3 , R^7 son como se ha definido anteriormente, y $n = 2$ ó 3 , según se describe en el Esquema 7.

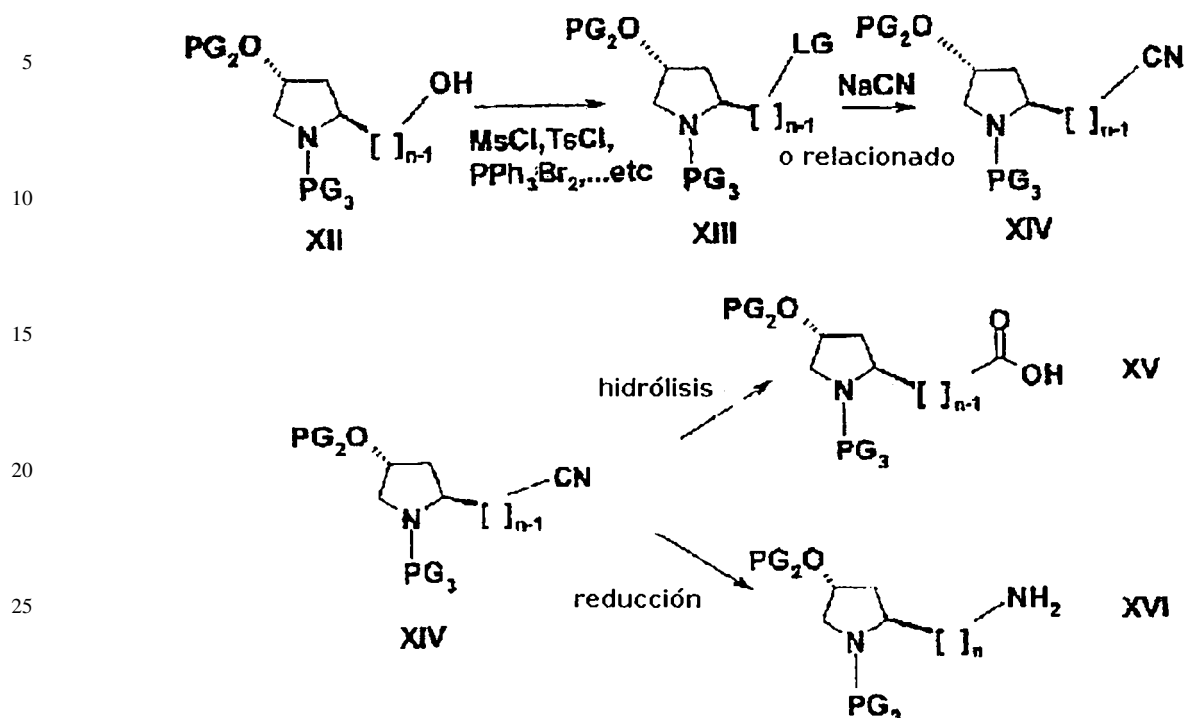
Esquema 7



Después, los compuestos de fórmula XII son sometidos a etapas clásicas de protección/desprotección y transformaciones de grupos funcionales, en especial a procedimientos operatorios de homologación de uno o dos carbonos, bien conocidos por los expertos en la técnica (7,8).

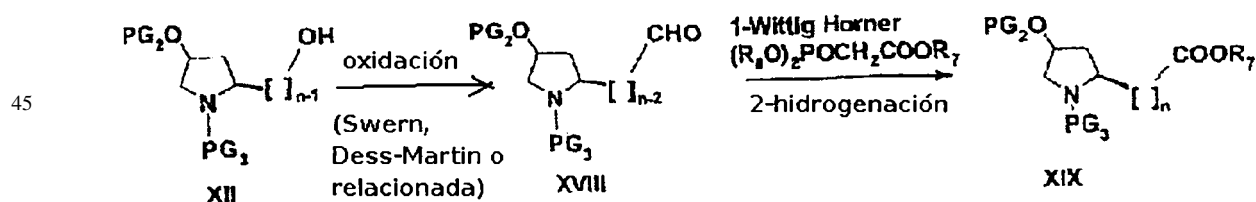
Un procedimiento preferido consiste en la homologación por un carbono de compuestos de fórmula general XII en la que PG_2 y PG_3 son como se ha definido anteriormente, y n es 2 ó 3, por desplazamiento de un grupo eliminable mediante un cianuro, seguido, o bien por una hidrólisis para dar ácidos carboxílicos de fórmula general XV en la que PG_2 , PG_3 y n son como se ha definido anteriormente, o bien una reducción para dar compuestos amino de fórmula general XVI en la que PG_2 , PG_3 y n son como se ha definido anteriormente, según se describe en el Esquema 8.

Esquema 8



En el caso de una homologación de dos carbonos, el procedimiento operatorio preferido consiste en hacer reaccionar un aldehído de fórmula general XVIII, obtenido por oxidación de un compuesto de fórmula general XX en la que PG_2 , PG_3 y n son como se ha definido anteriormente, con un reactivo de Wittig-Horner, según se describe en el Esquema 9. El compuesto obtenido de este modo se reduce después a compuestos de fórmula general XIX, en la que PG_2 , PG_3 , n y R^7 son como se ha definido anteriormente.

Esquema 9



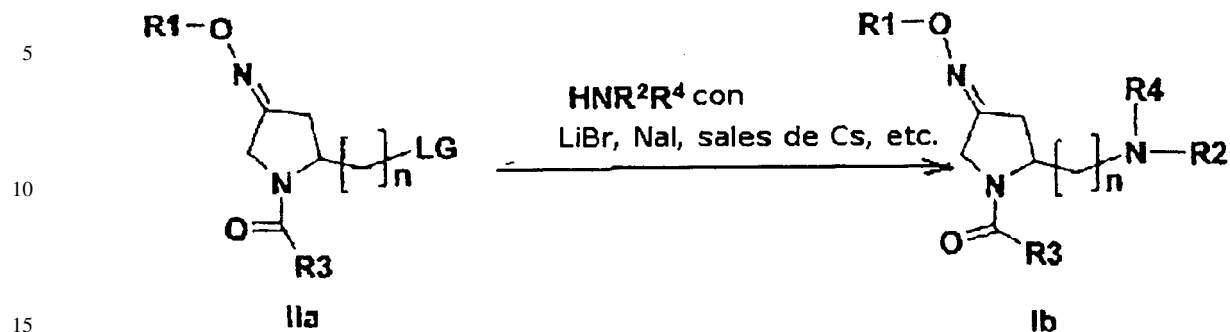
Las cuatro principales transformaciones químicas antes descritas, es decir, la etapa de acoplamiento, la etapa de reducción, la formación de oximas y la introducción del grupo R^2 , pueden llevarse a cabo en un orden diferente. La elección más apropiada de la secuencia de síntesis dependerá de la naturaleza de los sustituyentes R^1 - R^4 , n , X , y la de otros parámetros que pueden ser apreciados por los expertos en la técnica.

b) Aminopirrolidinas

Introducción del grupo R^2

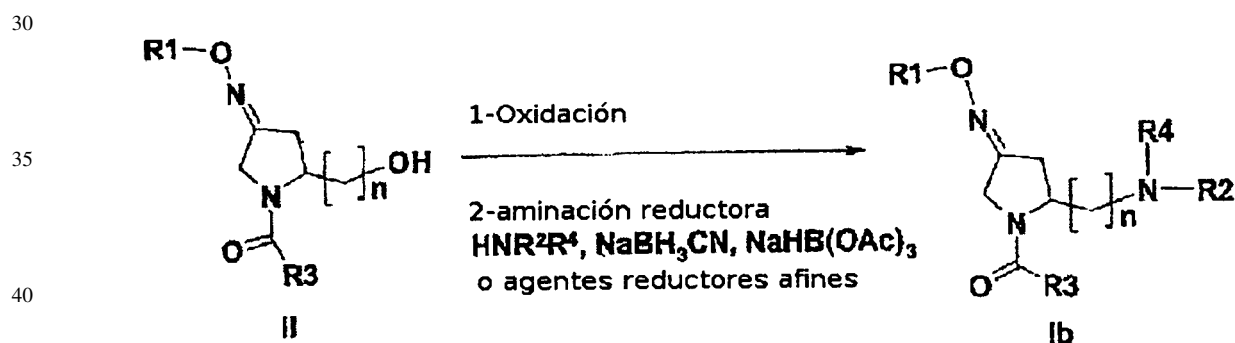
Los derivados de aminoalquilpirrolidina según la fórmula general Ib (fórmula I en la que X es NR^4) y en la que R^1 - R^4 y n son como se ha definido en la fórmula I, pueden prepararse a partir de los derivados de pirrolidina correspondientes IIa obtenidos en a) a partir de compuestos de fórmula II, según el esquema I), en la que R^1 , R^3 , n y LG son como se ha definido anteriormente, por desplazamiento del grupo LG con la amina HNR^2R^4 correspondiente, según se describe en el Esquema 10.

Esquema 10



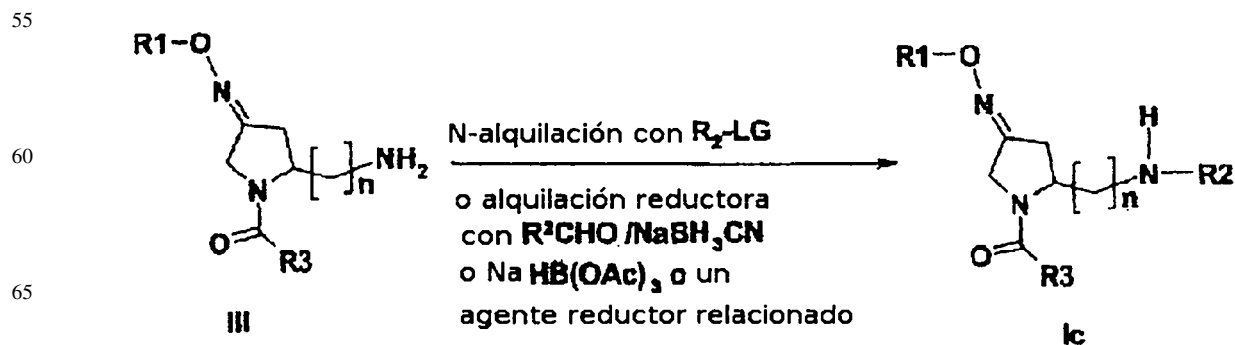
Un modo alternativo de preparación de derivados de aminoalquilpirrolidina conforme a la fórmula general Ib (fórmula I en la que X es NR⁴) en cuya fórmula R¹-R⁴ y n son como se ha definido anteriormente, se describe en el Esquema 11. Según tal procedimiento, el grupo hidroxilo de los derivados de pirrolidina de fórmula general II (que pueden ser obtenidos a partir de compuestos de fórmula IV; véase el esquema 2) en cuya fórmula R¹, R³ y n son como se ha definido anteriormente, es oxidado al aldehído correspondiente empleando condiciones bien conocidas para tal transformación, por ejemplo, DMSO/(COCl)₂, TEA (condiciones Swern) o reactivo Dess Martin. El aldehído se hace reaccionar después con aminas HNR²R⁴, en cuya fórmula R² y R⁴ son como se ha definido anteriormente, en condiciones reductoras.

Esquema 11



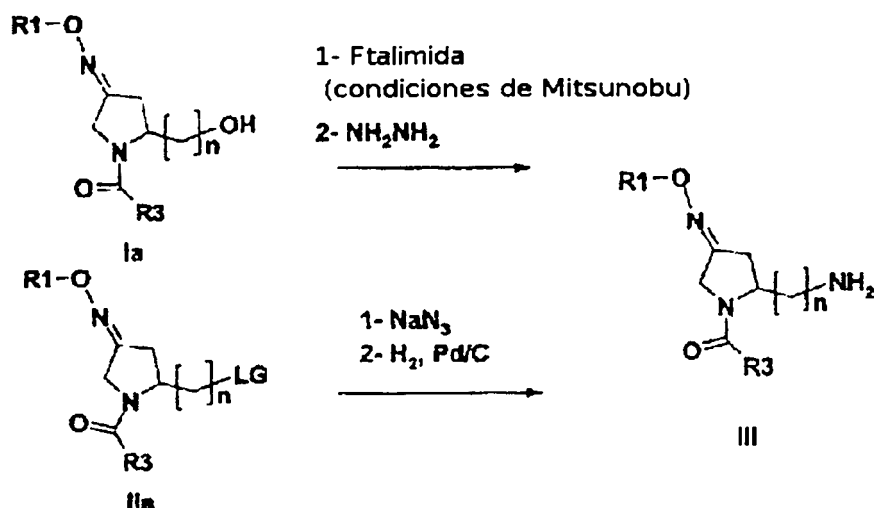
En el caso de derivados de aminoalquilpirrolidina según la fórmula general Ib en la que R⁴ es H y R¹, R², R³ y n son como se ha definido anteriormente, puede adoptarse un enfoque de síntesis alternativo. Los derivados de aminoalquilpirrolidina según la fórmula general Ib (fórmula I en la que X es NH), pueden ser obtenidos luego partiendo de los correspondientes derivados de aminoalquilpirrolidina de fórmula III en la que R¹, R³ y n son como se ha definido anteriormente, mediante alquilación directa con R²-LG, en cuya fórmula R² y LG son como se ha definido anteriormente, o alquilación reductora con un aldehído de fórmula R²CHO -en la que R² es como se ha definido anteriormente - y usando un agente reductor apropiado, según ilustra el Esquema 12.

Esquema 12



Los derivados de aminoalquilo de fórmula III en la que R^1 , R^3 y n son como se ha definido anteriormente, pueden ser obtenidos a partir de una hidroxialquilpirrolidina de fórmula II (que puede ser obtenida partiendo de compuestos de fórmula IV; véase el esquema 2) en cuya fórmula R^1 , R^3 y n son como se ha definido anteriormente, o derivados de fórmula general Iia (que pueden ser obtenidos partiendo de compuestos de fórmula II según el esquema 1) en cuya fórmula R^1 , R^3 , n y LG son como se ha definido anteriormente, mediante procedimientos operatorios bien conocidos para tales transformaciones de grupos funcionales. Dos ejemplos de tales transformaciones se ilustran en el Esquema 13.

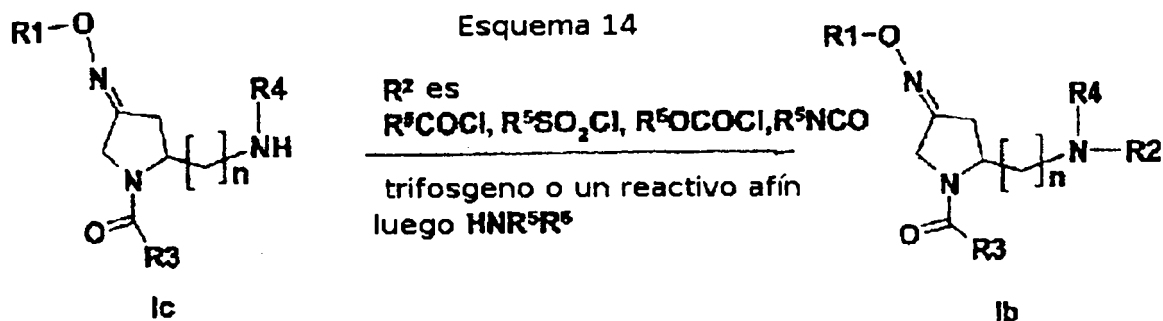
Esquema 13



Para compuestos de fórmula Ib (fórmula I en la que X es NR^4) en cuya fórmula R^2 es COR^5 , SO_2R^5 , COOR^5 , CONR^5R^6 , $\text{SO}_2\text{NR}^5\text{R}^6$, en cuyas fórmulas R^5 y R^6 son grupos alquilo o arilo, sustituidos o sin sustituir, y R^4 es H o un grupo alquilo o arilo, sustituido o sin sustituir, no son aplicables los métodos anteriormente descritos en los Esquemas 10, 11 y 12.

En este caso estos compuestos de fórmula Ib pueden ser obtenidos por tratamiento de un compuesto de fórmula general Ic (compuesto de fórmula Ib en la que R^2 es H obtenido según métodos establecidos en los Esquemas 10, 11 ó 12, con un agente de acilación adecuado, que incluyen un cloruro de acilo o un ácido carboxílico en conjunción con un agente de acoplamiento de tipo peptídico, por ejemplo, DIC o EDC, un agente de sulfonación y otros, según se especifica en el Esquema 14.

Esquema 14

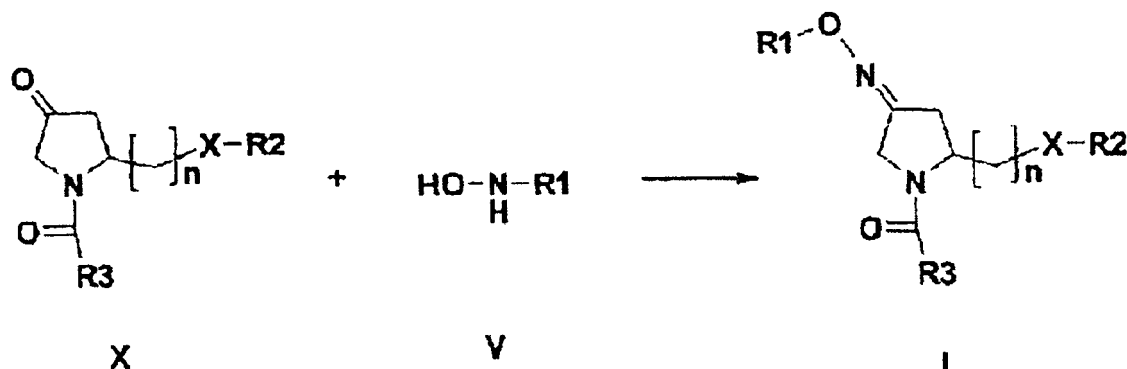


Las otras etapas, es decir, la introducción del grupo oxima, formación de cetopirrolidinas, etapa de reducción y etapa de acoplamiento, ya han sido descritas en el apartado a) anterior.

Sin embargo, como para la síntesis de alcoxipirrolidinas, las cuatro transformaciones químicas principales anteriormente descritas, pueden llevarse a cabo en un orden diferente. La elección más apropiada de la secuencia de la síntesis dependerá de la naturaleza de los sustituyentes R^1 - R^4 , n , X, y de otros parámetros que pueden ser apreciados por los expertos en la técnica.

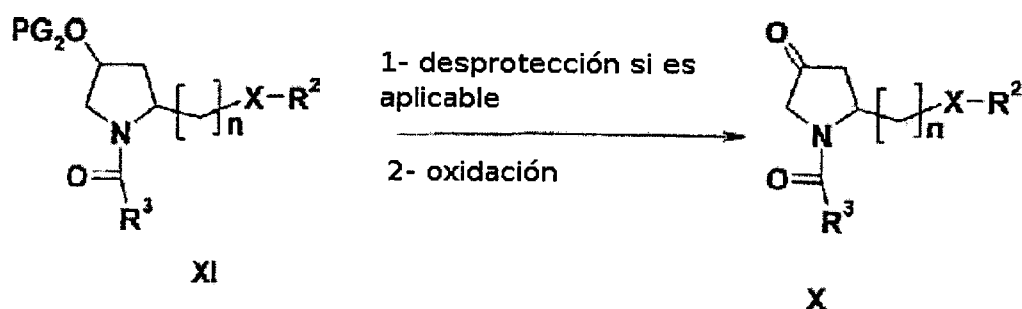
Como ejemplo, compuestos de fórmula general I en la que R^1 - R^4 , n y X son como se ha definido anteriormente, pueden ser obtenidos a partir de cetopirrolidinas de fórmula general X en cuya fórmula R^2 , R^3 , n y X son como se ha definido anteriormente, por reacción con una hidroxilamina, V, en la que R^1 es como se ha definido anteriormente, según se describe en el Esquema 15, lo que conduce a la introducción del resto de oxima.

Esquema 15



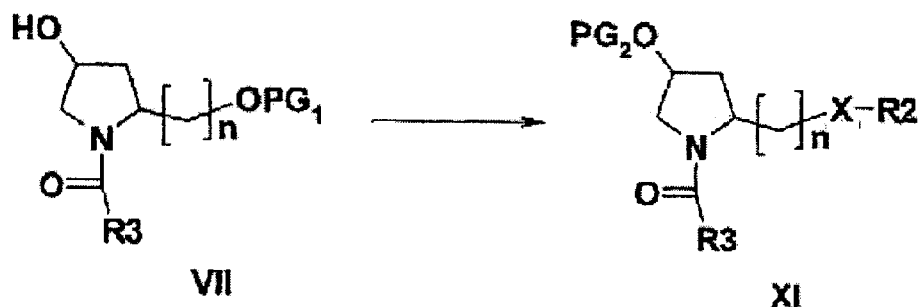
La cetopirrolidina de fórmula X puede ser obtenida por oxidación de un alcohol de fórmula general XI, en la que R^2 , R^3 , n y X son como se ha definido anteriormente y PG_2 es H o un grupo de protección del O adecuado, en condiciones similares a las de la transformación de compuestos de fórmula general VII en compuestos de fórmula general IV, según se describe en el Esquema 16.

Esquema 16



Los compuestos de fórmula general XI en la que R^2 , R^3 , n , PG_2 y X son como se ha definido anteriormente, pueden ser obtenidos partiendo de compuestos de fórmula general VII en la que R^3 , n y PG_1 son como se ha definido anteriormente, mediante la introducción del grupo R^2 siguiendo uno de los procedimientos descritos en los Esquemas 1, 10, 11, 12, 13 ó 14. La elección del procedimiento dependerá de la naturaleza de R^3 , R^2 , n y X , y puede apreciarse por los expertos en la técnica así como también la elección y secuencia de etapas de protección/desprotección apropiadas, según se describe en el Esquema 17.

Esquema 17



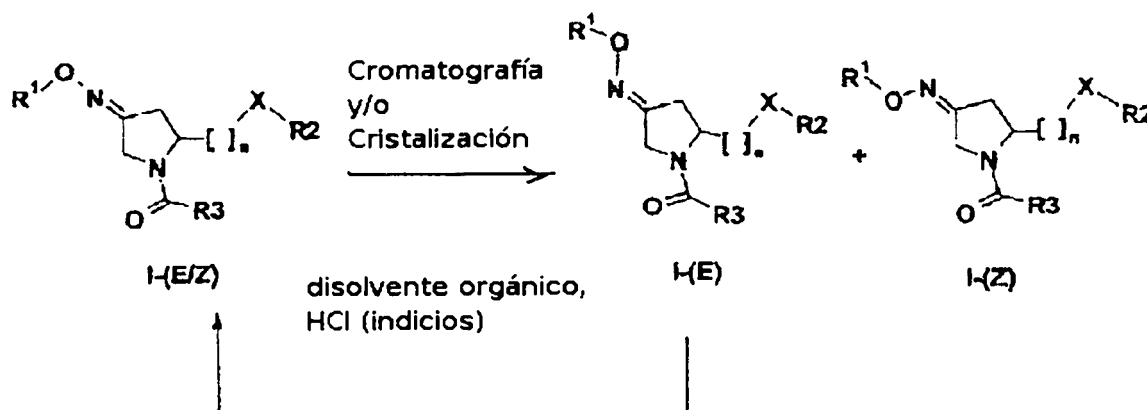
La obtención de compuestos de fórmula VII, al igual que la etapa de reducción, ya se ha descrito anteriormente.

Las secuencias de reacción expuestas en los Esquemas anteriores, proporcionan compuestos de fórmula I, puros desde el punto de vista enantiomérico si se utilizan materiales de partida puros desde el punto de vista enantiomérico. Pueden obtenerse enantiómeros (*R*) y (*S*) dependiendo de si se emplearon como los materiales de partida formas (*R*) ó (*S*) de compuestos de fórmula IX de que dispone en el comercio.

Las secuencias de reacción expuestas en los esquemas de reacción anteriores proporcionan, habitualmente, mezclas de los isómeros (*E*) y (*Z*) con respecto a los sustituyentes situados sobre el doble enlace exocíclico del anillo de pirrolidina. Los isómeros (*E*)/(*Z*) podrían separarse mediante técnicas cromatográficas estándar bien conocidas por los expertos en la técnica, tales como cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) de fase invertida o cromatografía de desarrollo súbito (FC) en gel de sílice. Alternativamente, uno de los dos isómeros (*E*)/(*Z*) podría ser enriquecido sucesivamente mediante cristalización selectiva en disolventes apropiados o mezclas de disolventes apropiadas. La asignación de la configuración absoluta del doble enlace exocíclico se llevó a cabo usando técnicas de NMR descritas en la bibliografía científica como es conocido por los expertos en la técnica (para asignaciones de configuraciones de, por ejemplo, funcionalidades de oximas (9)). Con objeto de aumentar los rendimientos globales de un isómero (habitualmente el isómero (*Z*), el otro isómero (habitualmente el isómero (*E*) podría ser reciclado por reisolación deliberada en disolventes orgánicos que contienen indicios de ácido, tales como de HCl, seguido de nuevo de separación de los isómeros (*E*)/(*Z*) por cromatografía y/o cristalización.

Según otro procedimiento general (esquema 18) los compuestos de fórmula I pueden ser convertidos en compuestos alternativos de fórmula I, empleando técnicas de interconversión adecuadas tales como las que se describen más adelante en esta memoria en los Ejemplos.

Esquema 18



Si los métodos de síntesis generales anteriormente expuestos no son aplicables para obtener compuestos según la fórmula I y/o los intermedios necesarios para llevar a cabo la síntesis de compuestos de fórmula I, deben utilizarse métodos de preparación adecuados conocidos por los expertos en la técnica. En general las rutas de síntesis para un compuesto individual de fórmula I dependerán de los sustituyentes específicos de cada molécula y de la disponibilidad de los intermedios necesarios; de nuevo, tales factores pueden ser apreciados por los expertos en la técnica. Para la totalidad de métodos de protección, desprotección, véase (7,10).

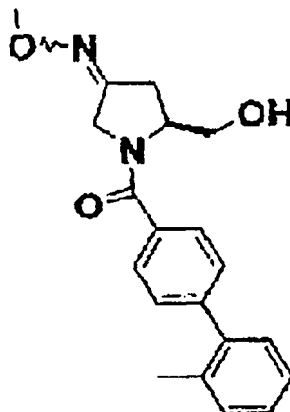
Ejemplos

La invención será ilustrada por medio de los ejemplos que siguen que no han de ser considerados como limitaciones del alcance de la invención.

Los compuestos de la presente invención pueden ser sintetizados según las diferentes rutas de síntesis proporcionadas anteriormente. Los ejemplos que siguen ilustran métodos preferidos para sintetizar los compuestos según la fórmula I y para determinar sus actividades biológicas.

Ejemplo I

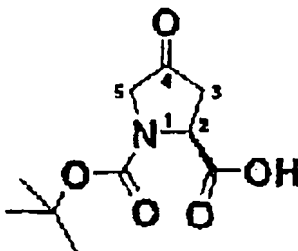
(3EZ,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona O-metiloxima (1) (compuestos de fórmula II o de fórmula Ia en las que R² es H)



(1)

Intermedio (1 a)

1-(terc-butoxicarbonil)-4-oxo-L-prolina

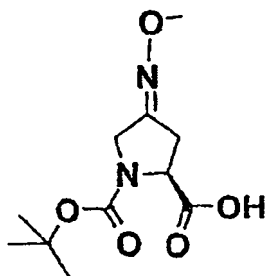


(1a)

Formación de cetopirrolidina

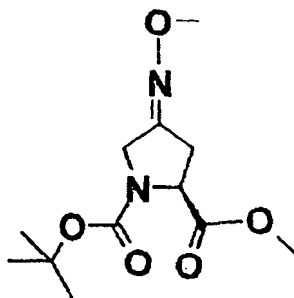
Ácido (2S,4R)-1-(terc-butoxicarbonil)-4-hidroxi-2-pirrolidinacarboxílico, comercial (30 g, 0,13 mol) se disolvió en acetona (1.500 ml). Se colocó un agitador mecánico en el matraz y la solución se agitó fuertemente. Se preparó una solución, recién obtenida, de ácido crómico 8N disolviendo trióxido de cromo (66,7 g, 0,667 mol) en agua (40 ml), añadiendo ácido sulfúrico concentrado (53,3 ml) y añadiendo cantidad suficiente de agua para llevar a 115 ml el volumen de la solución. La solución de ácido crómico 8N (115 ml) se añadió luego gota a gota a lo largo de un período de 30 minutos agitando fuertemente, manteniéndose el calor desprendido de la reacción en la temperatura óptima de 25°C mediante el uso de un baño de hielo. Una vez completada la adición del ácido crómico, la mezcla de reacción se agitó durante otros 15 minutos - manteniendo la temperatura óptima de 25°C. La mezcla de reacción se enfrió luego mediante la adición de metanol (20 ml). Se controló el calor desprendido mediante el uso de una baño de hielo y, si es necesario, la adición directa de una pequeña cantidad de hielo picado a la propia mezcla de reacción. La mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de Celita y luego se concentró en vacío. La solución ácida resultante se extrajo luego con acetato de etilo (3x300 ml) y las capas orgánicas reunidas se lavaron con salmuera (2x100 ml), después se secó con sulfato magnésico y se concentró en vacío. El producto crudo se recrystalizó en acetato de etilo obteniendo un producto blanco cristalino., el ácido (2S)-1-(terc-butoxicarbonil)-4-oxo-2-pirrolidinacarboxílico (22,55 g, 76%) (1a). ¹H NMR (360 MHz, CDCl₃): 1,4 (m, 9H), 2,5-3,0 (m, 2H), 3,7-3,9 (m, 2H), 4,75 (dd, 1H)).

Intermedio 1b

4EZ)-1-(terc-butoxicarbonil)-4-(metoxiimino)-L-prolina**(1b)***Introducción del grupo oxima*

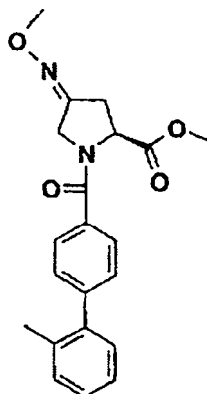
Se preparó una solución que contenía el ácido (2*S*)-1-(terc-butoxicarbonil)-4-oxo-2-pirrolidinacarboxílico (Intermedio 1a, 5,0 g, 21 mmol) e hidrocloreto de *O*-metilhidroxilamina (2,7 g, 32,8 mmol) en cloroformo (100 ml) que contenía trietilamina (5,5 g, 55 mmol). La mezcla de reacción se agitó luego a temperatura ambiente durante la noche, antes de retirar el disolvente. La mezcla de reacción cruda resultante se disolvió en acetato de etilo (150 ml) y se lavó rápidamente con HCl 1N (40 ml). La capa ácida se extrajo después con acetato de etilo (3 x 20 ml) y las capas orgánicas reunidas se lavaron con salmuera antes de secar sobre sulfato magnésico, se filtró y se separó el disolvente en vacío. El producto deseado (1b) (5,3 g, 94%) se aisló en forma de un aceite de color amarillo pálido. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃); 1,45 (m, 9H), 2,8-3,2 (m, 2H), 3,9 (s, 3H), 4,2 (m, 2H), 4,5-4,7 (m, 1H).

Intermedio 1c

(2S,4EZ)-4-(metoxiimino)pirrolidina-1,2-dicarboxilato de 1-terc-butil-2-metilo**(1c)**

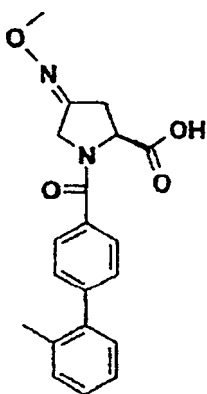
Se preparó una solución del éter de oxima ácido (2*S*,4*EZ*)-1-(terc-butoxicarbonil)-4-(metoxiimino)-2-pirrolidinacarboxílico (intermedio 1b, 0,648 g, 2,5 mmol) en el seno de una mezcla 1:1 de metanol y tolueno (35 ml). Se añadió luego trimetilsilil-diazometano (3,8 ml de una solución 2M en hexanos, 7,5 mmol), gota a gota, a la solución agitada, a temperatura ambiente, bajo nitrógeno. Una vez completado el desprendimiento de nitrógeno gaseoso, la solución de color amarillo resultante se evaporó en vacío, y el residuo se filtró a través de una almohadilla de gel de sílice, eluyendo con acetato de etilo. Por separación del disolvente desde el filtrado se obtuvo el éster metílico (1c) como producto en forma de un aceite de color amarillo (0,646 g, 95% de rendimiento).

Intermedio 1d

(2S,4EZ)-4-metoxiimino)-1-[(2'-metil[1,1'-bifenil]-4-il)carbonil]-2-pirrolidinacarboxilato de metilo**(1d)***Acoplamiento del grupo R³*

Se preparó una solución que contenía (2S,4EZ)-4-(metoxiimino)-1,2-pirrolidina-dicarboxilato de 1-terc-butil-2-metilo (intermedio 1c, 0,892 g, 3,28 mmol) en DCM anhidro (28 ml). Se añadió gota a gota TFA (20%, 7 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 20 minutos. Los disolventes se evaporaron y el producto deseado (0,564 g, cuantitativo) se aisló en forma de un aceite amarillo. Éste se disolvió directamente en una mezcla 7:3 de DCM y DMF (30 ml) y se trató con ácido 2'-metil[1,1'-bifenil]-4-carboxílico (0,765 g, 3,60 mmol) y 4-dimetilaminopiridina (0,880 g, 7,21 mmol). Se añadió EDC (0,691 mg, 3,60 mmol), lentamente, a 0°C, y la mezcla de reacción se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla se lavó con agua (dos veces 20 ml), se secó sobre MgSO₄, se filtró y se evaporó en vacío.

Intermedio 1e

Ácido (2S,4EZ)-4-(metoxiimino)-1-[2'-metil[1,1'-bifenil]-4-il)carbonil]-2-pirrolidinacarboxílico**(1e)***Introducción del grupo R²*

(2S,4EZ)-4-(metoxiimino)-1-[(2'-metil[1,1'-bifenil]-4-il)carbonil]-2-pirrolidinacarboxilato de metilo (intermedio 1d, 391 mg, 1,06 mmol) se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas en el seno de una disolución que contenía dioxano (9 ml), agua (3 ml) y NaOH (1,13 ml de una solución 1,6 N). Se separó el dioxano en vacío y se acidificó la solución por tratamiento con HCl 0,1N. Se extrajo con EtOAc, se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato magnésico, se filtró y se concentró, obteniendo el producto deseado (1e) (342 mg, rendimiento = 91%). ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): 2,23 (s, 1,5H), 2,25 (s, 1,5H), 3,10 (m, 2H), 3,83 (s, 1,5H), 3,85 (s, 1,5H), 4,10 (m, 2H), 5,18 (m, 1H), 7,18 (m, 4H), 7,37 (m, 2H), 7,57 (m, 2H).

EM (APCI+): 353 (M+1) (APCI-): 351 (M+1).

ES 2 330 841 T3

Ejemplo I: Ácido (2S,4EZ)-4-(metoxiimino)-1-[(2'-metil[1,1'-bifenil]-4-il)carbonil]-2-pirrolidinacarboxílico (Intermedio 1e, 50 mg, 0,14 mmol) se disolvió en THF (1 ml) y se trató con cloroformiato de etilo (163 μ l, 0,17 mmol) y TEA (29 μ l, 0,76 mmol) a -15°C. La mezcla de reacción se agitó a esta temperatura y bajo atmósfera de nitrógeno durante 30 minutos antes de la adición de borohidruro de sodio (13,4 mg en 0,65 ml de agua, 0,35 mmol). Luego se dejó calentar hasta alcanzar la temperatura ambiente. Al cabo de 3 horas, la reacción se apagó con 2,5 ml de una solución de HCl 1 N y se extrajo con EtOAc tres veces. Las capas orgánicas reunidas se lavaron con una solución de HCl 0,1 N (tres veces) y agua (tres veces), se secó sobre sulfato magnésico, se filtró y se concentró obteniendo el compuesto (1).

Rendimiento: 12% (6 mg).

Aspecto: aceite amarillo.

EM (APCI+): 339 (M+1).

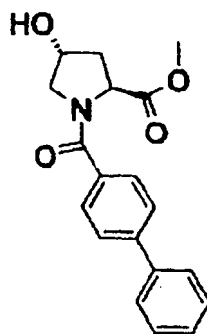
Pureza por HPLC: 90,1%.

Ejemplo II

(3EZ,5S)-1-(1,1'-bifenil-4-ilcarbonil)-5-(hidroximetil)pirrolidin-3-ona, O-metiloxima (2), (3Z,5S)-1-(1,1'-bifenil-4-ilcarbonil)-5-(hidroximetil)pirrolidin-3-ona, O-metiloxima (3) (3E,5S)-1-(1,1'-bifenil-4-ilcarbonil)-5-(hidroximetil)pirrolidin-3-ona, O-metiloxima (4) (compuestos de fórmula II ó Ia en las que R² es H)

Intermedio 2a

(4R)-1-(1,1'-bifenil-4-ilcarbonil)-4-hidroxi-L-prolinato de metilo (compuesto de fórmula (VIII))



(2a)

A una solución del ácido 4-bifenilcarboxílico (17,5 g, 88,3 mmol) en DMF (100 ml) se añadieron EDC (16,9 g, 88,3 mmol), HOBt (11,9 g, 88,3 mmol) y DIEA (27,9 ml, 183,9 mmol). La mezcla se agitó luego a temperatura ambiente durante 10 minutos antes de la adición de del hidrocloreto del éster metílico de trans-hidroxi-L-prolina (10,7 g, 73,6 mmol) y se dejó otras 48 horas a temperatura ambiente bajo atmósfera de nitrógeno. Después se concentró en alto vacío y se disolvió en acetato de etilo, se lavó con agua, solución de ácido clorhídrico 1N, solución saturada de hidrogenocarbonato de sodio y salmuera. Finalmente se secó sobre sulfato magnésico, se filtró y se concentró. El crudo obtenido de este modo se purificó mediante cromatografía súbita con ciclohexano/acetato de etilo 90:10 (compuesto 2a).

Rendimiento: 53% (12,6 g).

Aspecto: sólido de color pardo.

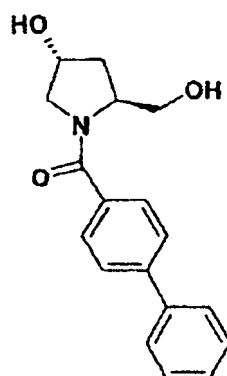
¹H NMR (CDCl₃): 2,11 (m, 1H), 2,36 (m, 1H), 3,58 (d, J = 11,5 Hz, 1H), 3,77 (s, 3H), 3,86 (dd, J = 3,4 y 11,1 Hz, 1H), 4,51 (s, 1H), 4,86 (t, J = (,3 Hz, 1H), 7,33-7,62 (m, 9H).

EM (APCI+): 651 (2M+1).

ES 2 330 841 T3

Intermedio 2b

(3R,5S)-1-(1,1'-bifenil-4-ilcarbonil)-5-(hidroximetil)-pirrolidin-3-ol



(2b)

Se añadió lentamente borohidruro de litio (600 mg, 25,8 mmol) a una solución del éster metílico (2a) (5,6 g, 17,2 mmol) en el seno de THF (80 ml), a 0°C, bajo atmósfera de nitrógeno. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas y se neutralizó el borohidruro con agua. El precipitado blanco que contenía el compuesto (2b) se filtró y se lavó con éter.

Rendimiento: 82% (4,2 g).

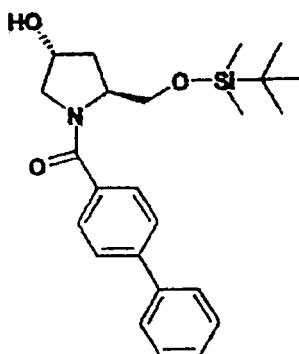
Aspecto: sólido blanco.

¹H NMR (DMSO): 1,90-2,02 (m, 2H), 3,24-3,30 (m, 2H), 3,57 (m, 2H), 3,67 (m, 1H), 4,18 (m, 1H), 4,28 (m, 1H), 4,80 (s ancho, 1H), 7,39-7,74 (m, 9H).

EM (APCI +): 299 (M+1).

Intermedio 2c

(3R,5S)-1-(1,1'-bifenil-4-ilcarbonil)-5-([terc-butil(dimetil)silil]oxi)-metilpirrolidin-3-ol (compuesto de fórmula VII)



(2c)

Una solución del diol (2b) (4,2 g, 14,1 mmol) y TBDMS-Cl (1,9 g, 12,6 mmol) en DMF (40 ml), se diluyó con DCM (150 ml) y se trató con DBU (421 μ l, 2,81 mmol) y TEA (1,96 ml, 14,1 mmol). Después se dejó en agitación la mezcla de reacción durante 16 horas a temperatura ambiente bajo atmósfera de nitrógeno. Después de diluir con acetato de etilo, la fase orgánica se lavó con agua. La fase acuosa se extrajo de nuevo con acetato de etilo y las fases orgánicas reunidas se lavaron con solución saturada de cloruro amónico y tres veces con salmuera, se secó sobre sulfato magnésico, se filtró y se concentró. El producto crudo obtenido de este modo se purificó mediante cromatografía súbita con DCM/MeOH (95:5) (compuesto 2c).

ES 2 330 841 T3

Rendimiento: 75% (4,39 g).

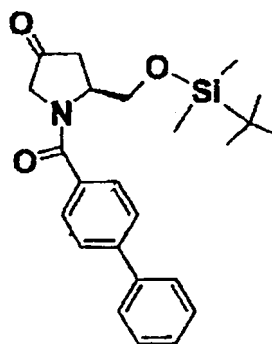
Aspecto: polvo blanco.

¹H NMR (DMSO): 0,03 (3, 6H), 0,88 (s, 9H), 1,92-2,04 (m, 2H), 3,30 (m, 1H), 3,54 (m, 1H), 3,72 (d ancho, J = 9,0 Hz, 1H), 3,92 (m, 1H), 4,20 (m, 1H), 4,30 (m, 1H), 4,83 (m, 1H), 7,37-7,56 (m, 5H), 7,77 (m, 4H).

CL/EM (ESI,+): 412 (M+1).

Intermedio 2d

(5S)-1-(1,1'-bifenil-4-ilcarbonil)-5-([terc-butil(dimetil)silil]oxi)metil]pirrolidin-3-ona (compuesto de fórmula IV)



(2d)

Una solución de DMSO anhidro (2,04 ml, 28,8 mmol) en el seno de DCM (15 ml) se añadió lentamente a una solución de cloruro de oxalilo (1,34 ml, 15,7 mmol) en DCM (5 ml) a -78°C, bajo atmósfera de nitrógeno. Se dejó en agitación la mezcla durante 30 minutos antes de añadir lentamente el alcohol (2c) (5,38 g, 13,1 mmol) en DCM (50 ml). La mezcla de reacción se agitó durante 3 horas a -78°C, se trató gota a gota con TEA (9,06 ml, 65,3 mmol) y se dejó calentar a temperatura ambiente. Después se lavó con salmuera, solución de HCl 1N, y otra vez con salmuera, se secó sobre sulfato magnésico, se filtró y se concentró. Compuesto 2d.

Rendimiento: 91% (4,88 g).

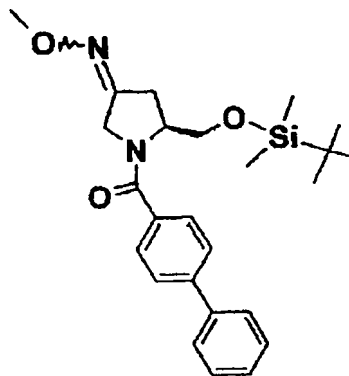
Aspecto: Aceite de color pardo.

¹H NMR (CDCl₃): 0,06 (s, 6H), 0,86 (s, 9H), 2,49-2,70 (m, 2H), 3,69 (m, 1H), 3,84 (m, 1H), 3,98 (m, 1H), 4,20 (m, 1H), 5,07 (m, 1H), 7,37-7,65 (m, 9H).

CL/EM (ESI,+): 410 (M+1).

Intermedio 2e

(3EZ,5S)-1-(1,1'-bifenil-4-ilcarbonil)-5-([terc-butil(dimetil)silil]oxi)metil]pirrolidin-3-ona, O-metiloxima



(2e)

ES 2 330 841 T3

Una mezcla de la cetona 2d (4,78 g, 11,7 mmol), hidrocloreto de metilhidroxilamina (2,44 g, 29,2 mmol) y TEA (4,05 ml, 29,2 mmol) en cloroformo (80 ml) se calentó a 65°C durante 16 horas. Después se lavó la mezcla con salmuera, solución de HCl 1N, otra vez con salmuera y se secó sobre sulfato magnésico, se filtró y se concentró, obteniéndose el compuesto 2e.

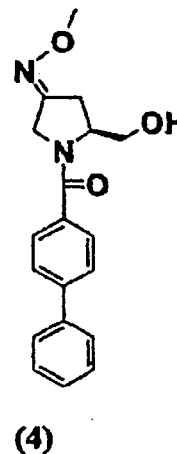
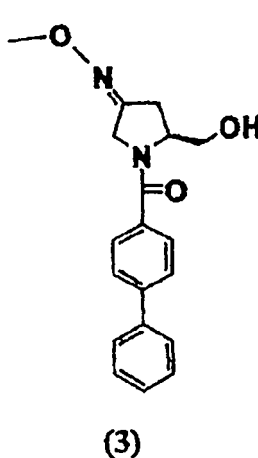
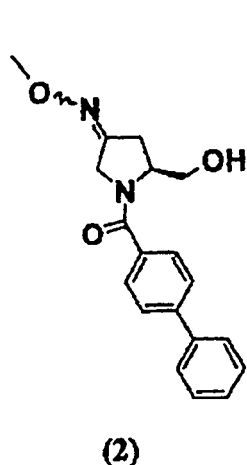
Rendimiento: 86% (4,41 g).

Aspecto: aceite de color pardo.

¹H NMR (CDCl₃): 0,06 (s, 6H), 0,88 (s, 9H), 2,68-2,90 (m, 2H), 3,42 (m, 1H), 3,78 (s, 1,5H), 3,83 (s, 1,5H), 4,1 (m, 2H), 4,31 (m, 1H), 4,83 (m, 1H), 7,34-7,64 (m, 9H).

CL/EM: ESI (+): 439 (M+1).

Compuestos finales: (3EZ,5S)-1-(1,1'-bifenil-4-ilcarbonil)-5-(hidroximetil)pirrolidin-3-ona, O-metiloxima (2). (3Z,5S)-1-(1,1'-bifenil-4-ilcarbonil)-5-(hidroximetil)-pirrolidin-3-ona, O-metiloxima, (3). (3E,5S)-1-(1,1'-bifenil-4-ilcarbonil)-5-(hidroximetil)pirrolidin-3-ona, O-metiloxima (4) (compuestos de fórmula II ó de fórmula Ia cuando R² es H)



Una solución de TBAF (14,1 ml de una solución 1M en THF, 14,1 mmol) se añadió a una solución de la oxima (2e) (4,13 g, 9,41 mmol) en el seno de THF (100 ml). La mezcla de reacción se dejó agitar a temperatura ambiente durante la noche. Después se concentró y diluyó con acetato de etilo. La fase orgánica se lavó con agua, solución de HCl 1N y salmuera antes de secar sobre sulfato magnésico, se filtró y se concentró.

Rendimiento: cuantitativo de la mezcla de EZ (2).

Aspecto: espuma blanca.

CL/EM: ESI (+): 325 (M+1).

Los dos isómeros E y Z fueron separados mediante cromatografía súbita empleando acetato de etilo/ciclohexano (80:20) como eluyente.

Fracción menos polar: (3E,5S)-1-(1,1'-bifenil-4-ilcarbonil)-5-(hidroximetil)pirrolidin-3-ona, O-metiloxima (3)

Rf: 0,36 (AcOEt/ciclohexano(80:20)).

Rendimiento: 25% (765 mg).

Aspecto: espuma blanca.

¹H NMR (DMSO): 2,64 (s ancho, 2H), 3,20-3,7 (m, 3H), 3,80 (s, 3H), 3,8-4,6 (m, 2H), 5,00 (t, J = 8,0 Hz, 1H), 7,37-7,60 (m; 9H).

IR (película): 3292, 1604, 1417, 1040.

ES 2 330 841 T3

EM (APCI,+): 325 (M+1).

Análisis elemental: (C₁₉H₂₀N₂O₃; 0,2H₂O):

Calculado: C, 69,58; H, 6,27; N, 8,54.

Encontrado: C, 69,53; H, 6,32; N, 8,36.

Pureza por HPLC: 98,6%.

Fracción más polar: (3Z,5S)-1-(1,1'-bifenil-4-ilcarbonil)-5-(hidroximetil)pirrolidin-3-ona, O-metiloxima (4)

Rf: 0,22 (AcOEt/ciclohexano (80:20)).

Rendimiento: 33% (1.013 mg).

Aspecto. polvo blanco.

Punto de fusión: 189°C.

¹H NMR (DMSO): 2,64-2,82 (m, 2H), 3,20-3,57 (m, 3H), 3,70-3,80 (m, 3H), 3,98-4,60 (m, 2H), 5,0 (t, J = 8,0 Hz, 1H), 7,37-7,76 (m, 9H).

IR (película): 3373, 1606, 1417, 1045.

EM (APCI, +): 649 (2M+1), 325 (M+1).

Análisis elemental: C₁₉H₂₀N₂O₃.

Calculado: C, 70,35; H, 6,21; N, 8,64.

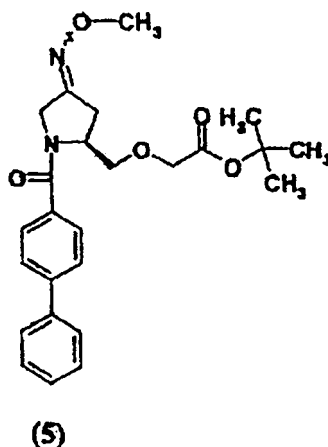
Encontrado: C, 70,22; H, 6,27; N, 8,56.

Pureza por HPLC: 99,9%.

Nota; Se aisló también una fracción de mezcla E/Z (470 mg).

Ejemplo III

[[(2S,4EZ)-1-(1,1'-bifenil-4-ilcarbonil)-4-(metoxiimino)pirrolidin-2-il]-metoxi]acetato de terc-butilo (5) (compuesto de fórmula I a)



A una solución agitada del alcohol (2) (mezcla EZ, 58 mg, 0,18 mmol) y bromoacetato de terc-butilo (530 μ l, 3,6 mmol) en el seno de diclorometano (0,2 ml) se añadieron solución acuosa de NaOH al 50% (0,8 ml) y cloruro de tetrabutilamonio (50 mg, 0,18 mmol), a temperatura ambiente, y la mezcla de reacción se agitó durante 1 hora. Después de diluir con agua, la mezcla se sometió a extracción con acetato de etilo, la fase orgánica se lavó con salmuera, se secó (MgSO₄) y se concentró. El producto (compuesto 5) se purificó por cromatografía en gel de sílice usando DCM:MeOH (95:5) como eluyente.

ES 2 330 841 T3

Rendimiento: 99% (85 mg).

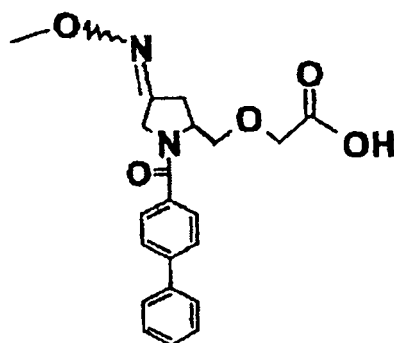
CL/EM (ESI, -): 381 (M-tBu-H).

¹H NMR (CDCl₃): 1,45 (s, 9H), 2,94 (m, 2H), 3,60-4,20 (m, 8H), 4,36 (m, 1H), 4,90 (m, 1H), 7,30-7,70 (m, 9H).

Pureza por HPLC: 92%.

10 Ejemplo IV

Ácido {[*(2S,4EZ)*-1-(1',-bifenil-4-ilcarbonil)-4-(metoxiimino)pirrolidin-2-il]metoxi}acético (6) (compuesto de fórmula Ia)



(6)

A una solución del éster terc-butílico (5) (45 mg, 0,1 mmol) en el seno de diclorometano (0,5 ml) se añadió ácido trifluoroacético (0,1 ml) a temperatura ambiente. Una vez completada la reacción, la mezcla se concentró en vacío. El producto crudo se disolvió en diclorometano y se lavó con HCl 1M. La capa orgánica se secó (MgSO₄) y se concentró.

Rendimiento: 40% (20 mg).

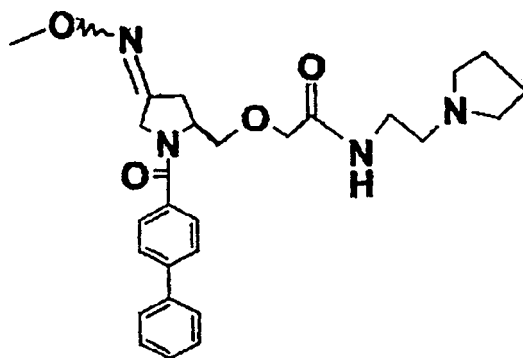
CL/EM (ESI-): 381 (M-H).

(ESI+): 383 (M+H).

Pureza por HPLC: 74%.

45 Ejemplo V

2-[[*(2S,4EZ)*-1-(1',1'-bifenil-4-ilcarbonil)-4-metoxiimino]pirrolidin-2-il]-metoxi]-N-(2-pirrolidin-1-ilet)acetamida (7) (compuesto de fórmula Ia)



(7)

ES 2 330 841 T3

Una solución del ácido (6) (15 mg, 0,04 mmol), 1-(2-aminoetil)pirrolidina (6 μ l, 0,05 mmol), DIC (7,2 μ l, 0,05 mmol) y DMAP (1 mg, 0,01 mmol), en el seno de diclorometano (1 ml), se agitó bajo argón a temperatura ambiente durante 18 horas. La mezcla se concentró en vacío y se purificó por cromatografía preparativa sobre gel de sílice usando DCM:MeOH (50:50) como eluyente.

Rendimiento: 80% (17 mg).

^1H NMR (CDCl_3): 1,71 (s, 4H), 2,30-4,00 (m, 8H), 3,37 (m, 2H), 3,50-4,40 (m, 9H), 4,96 (m, 1H), 6,87 (m, 1H), 7,30-7,70 (m, 9H).

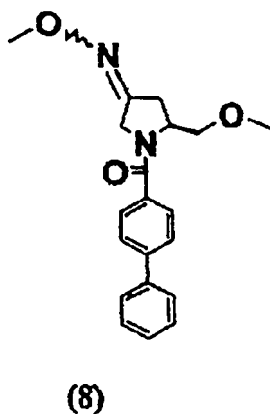
CL/EM (ESI-): 477 (M-H).

(ESI+): 479 (M+H).

Pureza por HPLC: 88%.

Ejemplo VI

(3EZ,5S)-1-(1,1'-bifenil-4-ilcarbonil)-5-(metoximetil)pirrolidin-3-ona, O-metiloxima (8) (compuesto de fórmula Ia)



A una solución del alcohol (2) mezcla EZ, 20 mg, 0,06 mmol) e hidruro de sodio (3 mg, 0,12 mmol) en tetrahydrofurano (1 ml), bajo argón, se añadió yoduro de metilo (7,7 μ l, 0,12 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante la noche y se apagó con agua. La mezcla se diluyó con acetato de etilo y se lavó con salmuera, se secó (MgSO_4) y se concentró en vacío. El crudo se purificó por cromatografía preparativa sobre gel de sílice usando DCM:MeOH (100:0) y luego (95:5).

Rendimiento: 94% (21 mg).

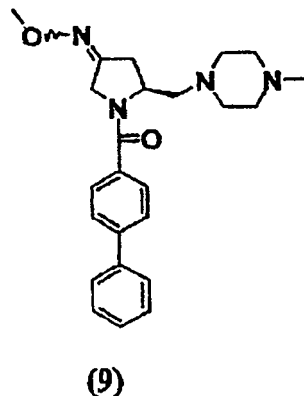
^1H NMR (CDCl_3): 2,80 (m, 2H), 3,35 (m, 3H), 3,46 (m, 1H), 3,67 (m, 1H), 3,84 (s, 3H), 4,27 (m, 2H), 4,91 (m, 1H), 7,30-7,70 (m, 9H).

CJ/EM (ESI+): 339 (M+1).

Pureza por HPLC: 93%.

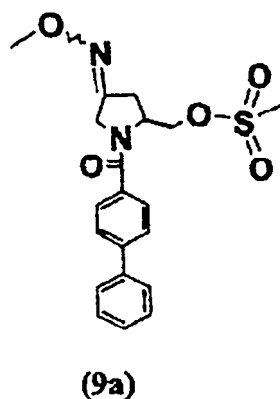
Ejemplo VII

(3EZ,5S)-1-(1,1'-bifenil-4-ilcarbonil)-5-[(4-metilpiperazinil)metil]-pirrolidin-3-ona, O-metiloxima (9) (compuesto de fórmula Ib)



Intermedio 9a

Metanosulfonato de [(2S,4EZ)-1-(1,1'-bifenil-4-ilcarbonil)-4-(metoxiimino)pirrolidin-2-il]metilo (compuesto de fórmula IIa)



Se añadió cloruro de mesilo (48 μ l, 0,62 mmol) a una solución del alcohol (2) (mezcla EZ, 80 mg, 0,25 mmol) en el seno de DCM (8 ml) se enfrió a 0°C y se mantuvo bajo atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se dejó calentar después a temperatura ambiente y se comprobó el curso de la reacción por TLC. La terminación se consiguió al cabo de 1 h 30. La fase orgánica se lavó con solución saturada de cloruro amónico y salmuera, se secó sobre sulfato magnésico, se filtró y se concentró.

Rendimiento: cuantitativo (115 mg).

Pureza por HPLC: 87%.

Ejemplo VII: El mesilato (9a) (60 mg, 0,15 mmol) se disolvió en MEK/ACN (1:1, 10 ml) y se trató con bromuro de litio (16 mg, 0,18 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 85°C antes de la adición de N-metilpiperazina (22 mg, 0,22 mmol) y TEA (31 μ l, 0,22 mmol) y se agitó a esta temperatura durante la noche. Luego se concentró se volvió a disolver en acetato de etilo, se lavó con solución saturada de NaHCO₃ y salmuera, se secó sobre sulfato magnésico, se filtró y se concentró. El crudo (48 mg) se purificó finalmente mediante cromatografía súbita con DCM/MeOH/NH₄OH (92:8:1) obteniendo el compuesto 9a.

Rf: 0,17 (DCM/MeOH/NH₄OH (90:10:1)).

Rendimiento. 36% (22 mg).

ES 2 330 841 T3

Aspecto: aceite de color pardo.

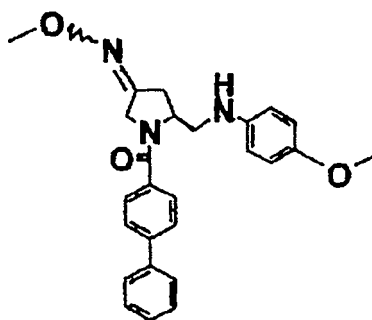
^1H NMR (CDCl_3): 2,31 (s, 3H), 2,45-2,86 (m, 14H), 3,85 (s ancho, 3H), 4,13 (m, 1H), 7,34-7,64 (m, 9H).

CL/EM (ESI, +): 407 (M+1).

Pureza por HPLC: 97,1%.

Ejemplo VIII

(3EZ,5S)-1-(1,1'-bifenil-4-ilcarbonil)-5-[(4-metoxifenil)amino]metil]-pirrolidin-3-ona, O-metiloxima (10) (compuesto de fórmula Ib)



(10)

Una solución del mesilato (9a) (32 mg, 0,08 mmol), p-metoxianilina (20 mg, 0,16 mmol) y trietilamina (22 μl , 0,16 mmol) en el seno de metiletilcetona/acetonitrilo (2 ml, 1:1), se agitó durante 2 días. La mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo y se lavó con solución saturada de NH_4Cl . La fase orgánica se secó (MgSO_4) y se concentró. El producto crudo obtenido de este modo se purificó por HPLC usando un sistema PARALLEX FLEX®.

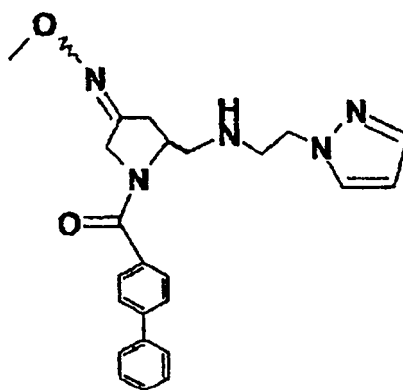
Rendimiento: 21% (10 mg).

Pureza por HPLC: 72%.

CL/EM (ESI+): 430 (M+1).

Ejemplo IX

(3EZ,5S)-1-(1,1'-bifenil)-4-ilcarbonil)-5-([2-(1H-pirazol-1-il)etil]amino)metil]pirrolidin-3-ona, O-metiloxima (11) (compuesto de fórmula IB)



(11)

ES 2 330 841 T3

Una solución del mesilato (9a) (60 mg, 0,15 mmol), 1-(2'-aminoetil)pirazol (58 mg, 0,53 mmol), carbonato potásico (41 mg, 0,30 mmol) y yoduro sódico (225 mg, 1,50 mmol, en el seno de tetrahidrofurano (5 ml), se agitó durante 2 días. La mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo y se lavó con HCl 1N y después con salmuera. La fase orgánica se secó (MgSO₄) y se concentró. El crudo se purificó usando un cartucho SPE C8.

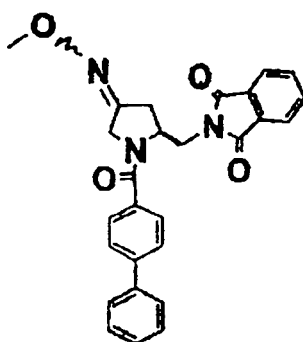
Rendimiento: 5% (3 mg).

CL/EM (ESI+): 418 (M+H).

Pureza por HPLC: 79%.

Ejemplo X

2-[[*(2S,4EZ)*-1-(1,1'-bifenil-4-ilcarbonil)-4-(metoxiimino)pirrolidin-2-il]metil]-1*H*-isoindol-1,3(2*H*)-diona (12) (compuesto de fórmula Ib)



(12)

Una solución del alcohol (2) (mezcla EZ, 51 mg, 0,16 mmol), ftalimida (70 mg, 0,48 mmol), polímero de trifenilfosina unido (158 mg, 0,48 mmol) y azodicarboxilato de dietilo (al 40% en tolueno, 205 μ l, 0,48 mmol) en el seno de tetrahidrofurano (5 ml), se agitó durante 2 días. La resina se filtró y la mezcla de reacción se concentró en vacío. El crudo se purificó por cromatografía preparativa sobre gel de sílice usando DCM como eluyente.

Rendimiento: 59% (50 mg).

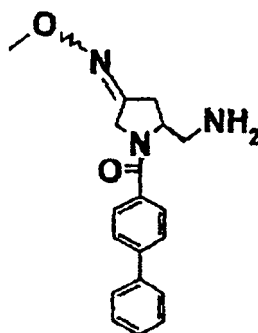
¹H NMR (CDCl₃): 2,76 (m, 2H), 3,60-4,50 (m, 7H), 5,32 (m, 1H), 7,20-8,00 (m, 13H).

CL/EM (ESI+): 454 (M+1).

Pureza por HPLC: 85%.

Ejemplo XI

(3EZ,5S)-5-(aminometil)-1-(1,1'-bifenil-4-ilcarbonil)pirrolidin-3-ona, O-metiloxima (13) (compuesto de fórmula III)



(13)

ES 2 330 841 T3

Una solución de la ftalimida (12) (42 mg, 0,09 mmol), hidrazina monohidrato (45 μ l, 0,93 mmol) en etanol:tetrahidrofurano (1:1, 1 ml), se agitó durante la noche. Se filtró el precipitado blanco y el filtrado se concentró en vacío obteniendo la amina esperada.

Rendimiento: 76% (26 mg).

CL/EM (ESI-): 422 (M-1).

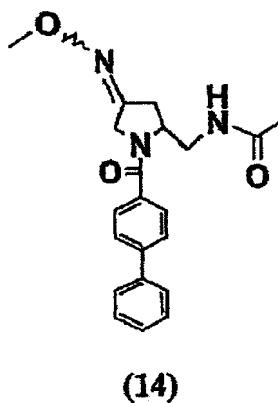
(ESI+): 424 (M+1).

^1H NMR (CDCl_3): 2,29 (m, 1H), 2,70 (m, 1H), 3,43 (m, 1H), 3,64 (m, 3H), 3,83 (s, 3H), 4,17 (m, 1H), 6,90 (m, NH_2), 7,20-8,00 (m, 9H).

Pureza por HPLC: 88%.

Ejemplo XII

N-{[[(4EZ,2S)-1-(1-1'-bifenil-4-ilcarbonil)-4-(metoxiimino)pirrolidin-2-il]metil]acetamida (14) (compuesto de fórmula Ib)



Una solución de la amina (13) (16 mg, 0,05 mmol), anhídrido acético (5,6 μ l, 0,06 mmol) y trietilamina (7,9 μ l, 0,06 mmol), en el seno de diclorometano, se agitó 30 minutos. La mezcla de reacción se lavó con agua. La fase orgánica se secó (MgSO_4) y se concentró en vacío. El crudo se purificó por cromatografía preparativa sobre gel de sílice usando como eluyente acetato de etilo.

Rendimiento: 42% (8 mg).

CL/EM (ESI-): 364 (M-1).

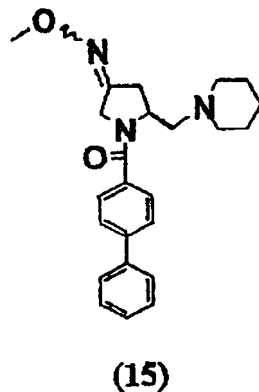
(ESI+): 366 (M+1).

^1H NMR (CDCl_3): 2,10 (s, 3H), 2,40-3,00 (m, 2H), 3,54 (m, 2H), 3,87 (s, 3H), 4,24 (m, 2H), 4,81 (m, 1H), 7,20-8,00 (m, 9H).

Pureza por HPLC: 95%.

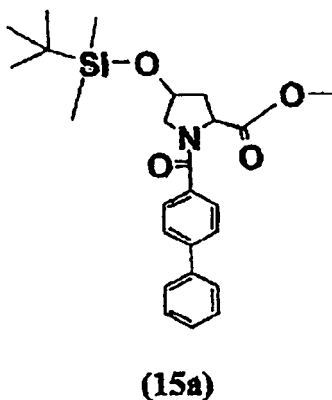
Ejemplo XIII

(3EZ,5S)-1-(1,1'-bifenil-4-ilcarbonil)-5-(piperidin-1-metil)pirrolidin-3-ona, O-metiloxima (15) (compuesto de fórmula IB)



Intermedio 15a

(4R)-1-(1,1'-bifenil-4-ilcarbonil)-4-[[terc-butil(dimetil)silil]oxi]-L-prolinato de metilo (compuestos de fórmula VIII)



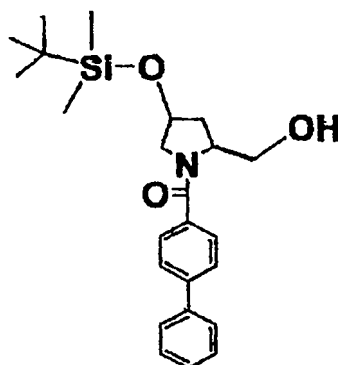
(4R)-1-(1,1'-bifenil-4-ilcarbonil)-4-hidroxi-L-prolinato de metilo (intermedio 2a, 2,07 g, 6,35 mmol) se disolvió en DC; (30 ml) y se trató con 4-DMAP (776 mg, 6,35 mmol), TEA (2,21 ml, 15,88 mmol) y TBDMS-Cl (1,91 g, 12,7 mmol). El curso de la reacción se comprobó mediante CL/EM. Al cabo de 24 horas, como la reacción no se había completado, se añadieron TBDMS-Cl (300 mg, 2 mmol) y TEA (1 ml). Al cabo de 48 horas la reacción se había completado. La mezcla se lavó con solución saturada de NH₄Cl y salmuera (dos veces), se secó sobre sulfato magnésico, se filtró y se concentró. El crudo (2,85 g) se purificó mediante cromatografía súbita usando EtOAc/cHex (50:50) como eluyente.

Rendimiento: 93% (2,61 g).

¹H NMR (CDCl₃): -0,05 (s, 3H), 0,02 (s, 3 H), 0,81 (s, 9H), 2,04 (m, 1H), 2,27 (m, 1H), 3,45 (d, J = 9,4 Hz, 1H), 3,78 (s, 3H), 3,81 (m, 1H), 4,43 (m, 1H), 4,80 (t, J = 8,1 Hz, 1H), 7,33-7,46 (m, 3H), 7,62 (m, 6H).

Intermedio 15b

((2*S*,4*R*)-1-(1,1'-bifenil-4-ilcarbonil)-4-[[*tert*-butil(dimetil)silil]-oxi]pirrolidin-2-il)metanol



(15b)

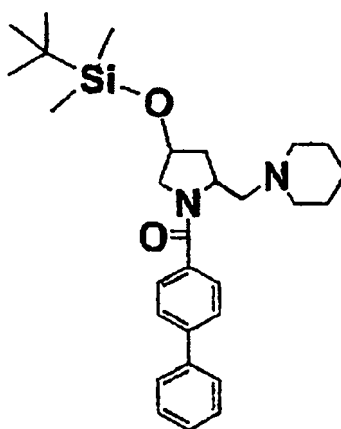
Una solución de (4*R*)-1-(1,1'-bifenil-4-ilcarbonil)-4-[[*tert*-butil (dimetil)silil]oxi]-L-prolinato de metilo (intermedio 15a, 2,61 g, 5,94 mmol) en THF (60 ml), se enfrió a 0°C y se trató con borohidruro de litio (95%, 206 mg, 8,9 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 3 horas y se apagó lentamente con agua. Se separó el THF a presión reducida, se volvió a disolver el crudo en AcOEt, se lavó con solución saturada de NH₄Cl y salmuera, se secó sobre sulfato magnésico, se filtró y se concentró.

Rendimiento: 92% (2,268 g).

CL/EM (ESI⁺): 412 (M+1).

Intermedio 15c

1-[(2*S*,4*R*)-1-(1,1'-bifenil-4-ilcarbonil)-4-[[*tert*-butil(dimetil)silil]-oxi]pirrolidin-2-il)metil]piperidina (compuesto de fórmula XI)



(15c)

A una solución del alcohol (15b) (200 mg, 0,49 mmol) en el seno de diclorometano (5 ml), bajo argón, se añadió reactivo de Dess Martin (227 mg, 0,53 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 24 horas, después se diluyó con diclorometano y se lavó con solución saturada de NaHCO₃. La capa acuosa se extrajo con diclorometano. Las fases orgánicas se lavaron con agua, se secó (MgSO₄) y se concentró. El aldehído obtenido se hizo pasar directamente a la etapa siguiente. A una solución del aldehído (184 mg, 0,45 mmol) en 1,2-dicloroetano se añadieron piperidina (49 µl, 0,50 mmol), ácido acético (28 µl, 0,50 mmol) y después triacetoxiborohidruro de sodio (143 mg, 0,68 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante la noche y luego se diluyó con acetato de etilo. La fase orgánica se lavó con solución saturada de NaHCO₃ y después con salmuera. Se secó la fase orgánica (MgSO₄) y se concentró, obteniendo la amina terciaria esperada.

ES 2 330 841 T3

Rendimiento: 95% (230 mg).

CL/EM (ESI-): 513 (M+Cl).

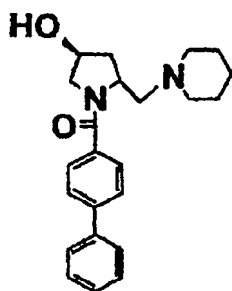
(ESI+): 479 (M+1).

¹H NMR (CDCl₃): -0,09 (s, 3H), 0,00 (s, 3H), 0,79 (s, 9H), 1,20-1,60 (m, 6H), 2,08 (m, 4H), 2,40-2,90 (m, 4H), 3,35 (m, 1H), 3,56 (m, 1H), 4,34 (m, 1H), 4,59 (m, 1H), 7,20-7,60 (m, 9H).

Pureza por HPLC: 90%.

Intermedio 15d

(3R,5S)-1-(1,1'-bifenil-4-ilcarbonil)-5-piperidin-1-ilmetil)pirrolidin-3-ol (compuesto de fórmula XI)



(15d)

Una solución del alcohol protegido (15c) (200 mg, 0,42 mmol) y TBAF (0,63 ml, 1M en THF) en tetrahidrofurano, se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. La mezcla de reacción se concentró, se diluyó luego con acetona-acetato de etilo (1-2) y se lavó con una solución saturada de NaHCO₃. La fase orgánica se secó (MgSO₄) y se concentró obteniendo el alcohol esperado

Rendimiento: 51% (90 mg).

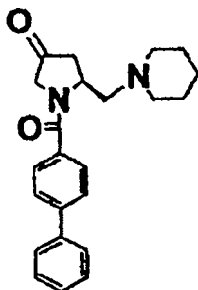
CL/EM (ESI+): 365 (M+1).

¹H NMR (CDCl₃): 1,20-1,60 (m, 6H), 2,19 (m, 4H), 2,25-2,90 (m, 4H), 3,50 (m, 2H), 4,43 (m, 1H), 4,62 (m, 1H), 7,30-7,70 (m, 9H).

Pureza por HPLC: 86%.

Intermedio 15e

(5S)-1-(1,1'-bifenil-4-ilcarbonil)-5-piperidin-1-ilmetil)-pirrolidin-3-ona (compuesto de fórmula X)



(15e)

Una solución de DMSO (46,8 μl, 0,66 mmol) en el seno de diclorometano (1 ml) se añadió gota a gota a una solución de cloruro de oxalilo (28,2 μl, 0,33 mmol) en diclorometano (2 ml), a -78°C, bajo argón. Al cabo de 15 minutos a -78°C se añadió gota a gota una solución del alcohol (15d) (80 mg, 0,22 mmol) en diclorometano (1 ml). La mezcla de reacción se agitó a -78°C durante 1 hora, se trató con trietilamina (0,152 ml, 1,1 mmol) y se dejó calentar a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo, se lavó con agua y luego con salmuera. Se secó la fase orgánica (MgSO₄) y se concentró obteniendo la cetona esperada.

ES 2 330 841 T3

Rendimiento: 84% (78 mg).

CL/EM (ESI-): 361 (M-1).

(ESI+): 363 (M+1).

Pureza por HPLC: 86%.

Ejemplo XIII: Una solución de la cetona (15e) (70 mg, 0,19 mmol), hidrocloreto del éter metílico de hidroxilamina (48 mg, 0,58 mmol) y trietilamina (80 μ l, 0,58 mmol), en cloroformo (3 ml), se agitó a 70°C durante 2 días. La mezcla de reacción se diluyó con diclorometano y se lavó con HCl 1N. La fase orgánica se secó (MgSO_4) y se concentró, obteniéndose el éter de la oxima.

Rendimiento: 90% (73 mg).

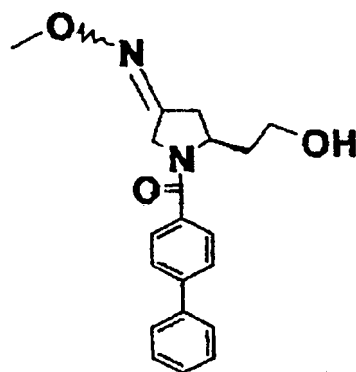
CL/EM: (ESI+): 392 (M+1).

^1H NMR (CDCl_3): 1,39 (m, 2H), 1,50-1,90 (m, 4H), 2,07 (m, 2H), 2,43 (m, 2H), 2,50-3,10 (m, 4H), 3,38 (m, 1H), 3,68 (m, 1H), 3,79 (m, 3H), 4,21 (m, 2H), 4,86 (m, 1H), 7,20-8,00 (m, 9H).

Pureza por HPLC: 94%.

Ejemplo XIV

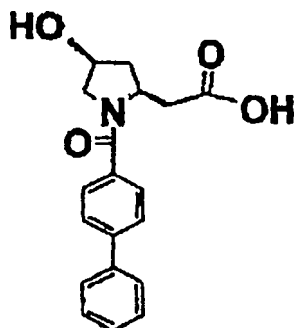
3EZ,5S)-1-(1,1'-bifenil-4-ilcarbonil)-5-(2-hidroxietil)pirrolidin-3-ona, O-metiloxima (16) (compuesto de fórmula II)



(16)

Intermedio 16a

Ácido [(2S,4R)-1-(1,1'-bifenil-4-ilcarbonil)-4-hidroxipirrolidin-2-il]acético (compuesto de fórmula VIII)



(16a)

A una solución de hidrocloreto de L-beta-homohidroxi prolina comercial (245 mg, 1,35 mmol), trietilamina (1,13 ml, 8,09 mmol), en agua (0,8 ml) y tetrahidrofurano (2 ml), a 0°C, bajo argón, se añadió gota a gota una solución de cloruro de 4-fenilbenzilo (438 mg, 2,02 mmol) en el seno de tetrahidrofurano (1 ml). La mezcla de reacción se dejó

ES 2 330 841 T3

calentar a temperatura ambiente y después se agitó 18 horas. Luego se diluyó con acetona-acetato de etilo (1-2) y se lavó con HCl 1N. La fase orgánica se secó (MgSO₄) y se concentró obteniendo una mezcla del producto deseado y cloruro de 4-fenilbenzoilo. Una pequeña cantidad de ácido pudo obtenerse por precipitación con acetato de etilo.

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

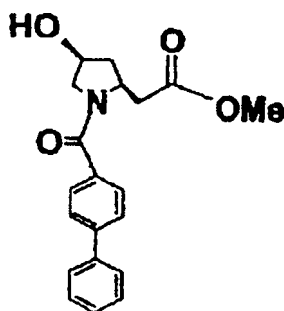
CL/EM: (ESI-): 280 (M-1-CO₂), 324 (M-1).

(ESI+): 326 (M+1).

Pureza por HPLC: 84%.

Intermedio 16b

[(2S,4R)-1-(1,1'-bifenil-4-ilcarbonil)-4-hidroxi-pirrolidin-2-il]acetato de metilo (compuesto de fórmula VIII)



(16b)

A una solución de la mezcla de ácidos previamente obtenida (intermedio 16a) en el seno de tolueno-metanol (10 ml, 1-1) se añadió diazometiltrimetilsilano (2,76 ml, 2M, en hexano). Después de 3 horas la mezcla de reacción se concentró y se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice usando como eluyente acetato de etilo.

Rendimiento: 40% (para las dos etapas, 256 mg).

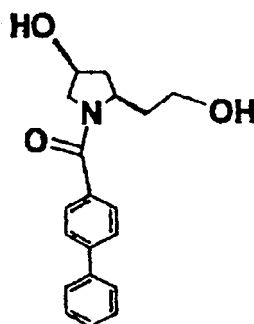
¹H NMR (DMSO): 1,82 (m, 1H), 2,11 (m, 1H), 2,6 (dd, J=15,4 Hz, J=8,3 Hz, 1H), 2,97 (dd, J=15,3 Hz, J=3,4 Hz, 1H), 3,25 (d, J=11,4 Hz, 1H), 3,62 (s, 3H), 3,67 (dd, J=11,4 Hz, J=3,4 Hz, 1H), 4,16 (m, 1H), 4,44 (m, 1H), 4,86 (d, J=3,4 Hz, OH), 7,30-8,00 (m, 9H).

CL/EM (ESI+): 340 (M+1).

Pureza por HPLC: 98%.

Intermedio 16c

(3R,5R)-1-(1,1'-bifenil-4-ilcarbonil)-5-(2-hidroxietil)pirrolidin-3-ol (compuesto de fórmula VII)



(16c)

ES 2 330 841 T3

A una solución del éster metílico (16b) (310 mg, 0,91 mmol) en tetrahidrofurano, a 0°C, bajo argón, se añadió borohidruro de litio (30 mg, 1,37 mmol). La mezcla de reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó 12 horas. El LiBH₄ se apagó con agua y el tetrahidrofurano se evaporó en vacío. Se añadió acetonitrilo y se filtró el precipitado blanco obtenido, se lavó con acetonitrilo, luego con éter y finalmente se secó.

Rendimiento: 97% (280 mg).

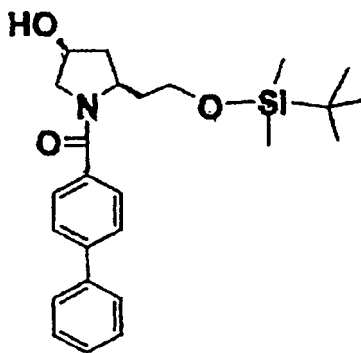
¹H NMR (DMSO): 1,69 (m, 1H), 1,87 (m, 1H), 2,15 (m, 2H), 3,35 (m, 1H), 3,57 (m, 2H), 3,72 (d, J=11,3 Hz, 1H), 4,25 (m, 1H), 4,40 (m, 1H), 4,56 (m, OH), 4,87 (m, OH), 7,30-8,00 (m, 9H).

CL/EM (ESI+): 294 (M-H₂O+1), 312 (M+1)⁺, 334 (M+Na).

Pureza por HPLC: 98,5%.

Intermedio 16d

(3R,5R)-1-(1,1'-bifenil-4-ilcarbonil)-5-(2-[[terc-butil(dimetil)silil]-oxi]etil)pirrolidin-3-ol (compuesto de fórmula VII).



(16d)

A una solución del diol (16c) (270 mg, 0,87 mmol) en dimetilformamida (10 ml), se añadió gota a gota una solución de cloruro de terc-butildimetilsililo (131 mg, 0,87 mmol) y trietilamina (120 µl, 0,87 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 días. Se añadió acetato de etilo y la mezcla de reacción se lavó con agua. La fase acuosa se extrajo con acetato de etilo. Las fases orgánicas se secaron (MgSO₄) y se concentró en vacío. El crudo se purificó por cromatografía preparativa sobre gel de sílice usando como eluyente acetato de etilo: ciclohexano (50:50).

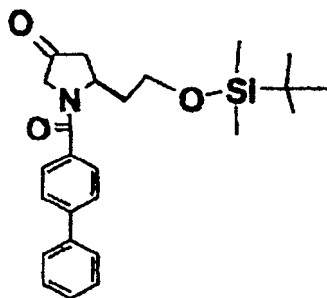
Rendimiento: 17% (63 mg).

CL/EM (ESI+): 426 (M+1).

Pureza por HPLC: 100%.

Intermedio 16e

(5R)-1-(1,1'-bifenil-4-ilcarbonil)-5-(2-[[terc-butil(dimetil)silil]-oxi]etil)pirrolidin-3-ona (compuesto de fórmula IV)



(16e)

ES 2 330 841 T3

Una solución de DMSO (31,4 μ l, 0,44 mmol) en diclorometano (1 ml) se añadió gota a gota a una solución de cloruro de oxalilo (19 μ l, 0,22 mmol) en diclorometano (2 ml), a -78°C, bajo argón. Después de 15 minutos a -78°C se añadió gota a gota una solución del alcohol (16d) (63 mg, 0,15 mmol) en diclorometano (1 ml). La mezcla de reacción se agitó a -78°C durante 1 hora, se añadió trietilamina (0,102 ml, 0,74 mmol) y se dejó calentar a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo, se lavó con agua y después con salmuera. Se secó la fase orgánica (MgSO₄) y se concentró obteniendo la cetona esperada.

Rendimiento: 100% (64 mg).

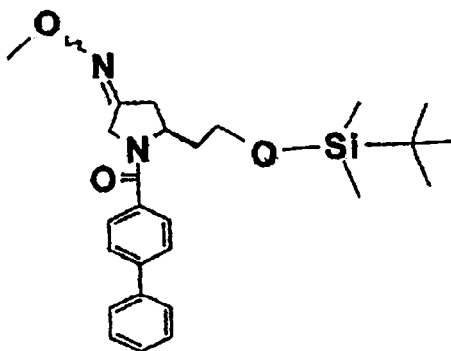
CL/EM (ESI-): 422 (M-1).

(ESI+): 424(M+1).

Pureza por HPLC: 99%.

Intermedio 16f

(3Z,5S)-1-(1,1'-bifenil-4-ilcarbonil)-5-(2-{{terc-butil(dimetil)silil}-oxi}etil)pirrolidin-3-ona, O-metiloxima



(16f)

Una solución de la cetona (16e) (64 mg, 0,15 mmol), hidrocloreuro del éter metílico de hidroxilamina (38 mg, 0,45 mmol) y trietilamina (62 μ l, 0,45 mmol), en el seno de cloroformo (4 ml), se agitó a 70°C durante 5 días. La mezcla de reacción se diluyó con diclorometano y se lavó con HCl 1N. Se secó la fase orgánica (MgSO₄) y se concentró obteniendo el éter de oxima esperado.

Rendimiento: 96% (68 mg).

¹H NMR (CDCl₃): 0,01 (s, 6H), 0,84 (s, 9H), 1,5-2,0 (m, 2H), 2,66 (m, 1H), 2,81 (m, 1H), 3,67 (m, 2H), 3,82 (s, 3H), 4,20 (m, 2H), 4,88 (m, 1H), 7,20-8,00 (m, 9H).

Pureza por HPLC: 95%.

CL/EM (ESI+): 453 (M+1).

Ejemplo XIV: Una solución del alcohol protegido (16 f) (68 mg, 0,15 mmol) y TBAF (0,225 ml, 1M en THF) en tetrahidrofurano, se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. La mezcla de reacción se concentró, se diluyó luego con acetato de etilo y se lavó con agua. Se secó la fase orgánica (MgSO₄) y se concentró.

Rendimiento: 85%.

¹H NMR (CDCl₃): 1,60 (m, 1H), 1,89 (m, 1H), 2,55 (m, 1H), 2,92 (m, 1H), 3,67 (m, 2H), 3,82 (s, 3H), 4,20 (m, 2H), 5,07 (m, 1H), 7,20-8,00 (m, 9H).

CL/EM (ESI+): 339 (M+1).

Pureza por HPLC: 96%.

Ejemplo XV

Preparación de una formulación farmacéutica

5 Los ejemplos de formulaciones que siguen ilustran composiciones farmacéuticas representativas según la presente invención.

Formulación 1

10

Comprimidos

15 Un compuesto de pirrolidina de Fórmula I se mezcla al estado de polvo seco con un aglutinante constituido por gelatina anhidra en una relación en peso aproximada de 1:2. Se añade una pequeña cantidad de estearato magnésico como lubricante. La mezcla se configura en comprimidos de 240-270 mg (80-90 mg de compuesto activo de pirrolidina por comprimido) en una máquina de comprimir.

Formulación 2

20

Cápsulas

25 Un compuesto de pirrolidina de Fórmula I se mezcla al estado de polvo seco con almidón como diluyente en una relación en peso, aproximada, de 1:1. La mezcla se llena en cápsulas de 250 mg (125 mg de compuesto de pirrolidina activo por cápsula).

Formulación 3

30

Líquido

35 Se mezclan un compuesto de pirrolidina de Fórmula I (1.250 mg), sacarosa (1,75 g) y goma de xantano (4 mg), se hace pasar la mezcla a través de un tamiz del No. 10 de la serie de tamices de EE.UU. y luego se mezcla con una solución de celulosa microcristalina y carboximetilcelulosa sódica (11:89, 50 mg), en agua, preparada previamente. Se diluyen con agua benzoato sódico (10 mg), saborizante y colorante, y se añaden con agitación. Se añade después agua suficiente para producir un volumen total de 5 ml.

Formulación 4

40

Comprimidos

45 Un compuesto de pirrolidina de Fórmula I se mezcla al estado de polvo seco con gelatina anhidra como aglutinante en una relación en peso aproximada de 1:2. Se añade una pequeña cantidad de estearato magnésico como lubricante. La mezcla se configura en comprimidos de 450-900 mg (150-300 mg de compuesto de pirrolidina activo) en una máquina de comprimir.

Formulación 5

50

Inyección

55 Un compuesto de pirrolidina de Fórmula I se disuelve en solución salina acuosa estéril tamponada, inyectable, a una concentración de 5 mg/ml, aproximadamente.

Ejemplo XVI

Ensayos biológicos

60

Los compuestos según la Fórmula I pueden ser sometidos a los ensayos que siguen

a) *Ensayo de enlace en competencia, in vitro, sobre el receptor hOT con Análisis de Proximidad de Centelleo (11)*

65 Este análisis permite determinar la afinidad de los compuestos de ensayo para el receptor de Oxitocina humana (hOT). Membranas procedentes de células HEK293EBNA (células que expresan el receptor de hOT) fueron suspendidas en una solución tampón que contenía Tris-HCl 50 mM, pH 7,4, MgCl₂ 5 mM y BSA al 0,1% (p/v). Las membranas (2-4 µg) fueron mezcladas con bolas de SPA, 0,1 mg, revestidas con aglutinina de germen de trigo (bolas de WGA-

PVT-Polietilenimina, procedentes de Amersham) y 0,2 nM del [125 I]-OVTA radiomarcado) (OVTA es Ornitina Vasoactiva, un análogo de OT para experimentos de enlace en competencia). Se determinó el enlace inespecífico en presencia de Oxitocina 1 μ M. El volumen total del ensayo fue 100 μ l. Las placas (placa NBS de Corning®) fueron incubadas a temperatura ambiente durante 30 minutos y sometidas a recuento en un contador de centelleo de placas Mibrobeta®. El enlace en competencia se llevó a cabo en presencia de compuestos de fórmula (I) en las concentraciones siguientes: 30 μ M, 10 μ M, 1 μ M, 300 nM, 100 nM, 10 nM, 1 nM, 100 pM, 10 pM. Los resultados del enlace competitivo obtenidos fueron analizados usando el programa de ajuste de curvas, no lineal, iterativo, "Prism" (GraphPad Software, Inc.).

La aptitud de derivados de pirrolidina de fórmula (I) para inhibir el enlace de 125 I-OVTA al receptor de OT fue determinada usando el análisis biológico *in vitro* descrito. Valores representativos para algunos compuestos que sirven de ejemplo, figuran en la Tabla I en la que la afinidad del enlace de compuestos de ensayo procedentes de los ejemplos anteriores, está expresada por la constante de inhibición (K_i ; nM). Partiendo de estos valores puede deducirse que dichos compuestos de ensayo según la fórmula I manifiestan un enlace importante al receptor de oxitocina.

TABLA I

Compuesto No.	Nombre (IUPAC)	Afinidad de enlace hOT-R (K_i [nM])
2	(3EZ,5S)-1-(1,1'-bifenil-4-ilcarbonil)-5-(hidroximetil)pirrolidin-3-ona, O-metil-oxima	139
4	(3Z,5S)-1-(1,1'-bifenil-4-ilcarbonil)-5-(hidroximetil)pirrolidin-3-ona, O-metil-oxima	94,9
7	2-[(2S,4Z)-1-(1,1'-bifenil-4-ilcarbonil)-4-(metoxiimino)pirrolidin-2-il]metoxi}-N-(2-pirrolidin-1-iletíl)acetamida	140
8	(3EZ,5S)-1-(1,1'-bifenil-4-ilcarbonil)-5-(metoximetil)pirrolidin-3-ona, O-metil-oxima	55,0
12	2-[(2S,4Z)-1-(1,1'-bifenil-4-ilcarbonil)-4-(metoxiimino)pirrolidin-2-il]metil}-1H isoindol-1,3(2H)-diona	5,1
16	(3EZ,5S)-1-(1,1'-bifenil-4-ilcarbonil)-5-(2-hidroxietil)pirrolidin-3-ona, O-metil-oxima	120

b) *Análisis funcional No. 1: Inhibición de la movilización de Ca^{2+} mediada por oxitocina, por FLIPR® (Lector de placas de Imágenes fluorimétricas)*

La acción de OT sobre el receptor de OT desencadena en la célula una cascada compleja de acontecimientos que conduce a un aumento de la concentración de Ca^{2+} intra-citoplásmica. Este aumento de la concentración de Ca^{2+} resulta tanto de la liberación de calcio desde el retículo sarcoplásmico (depósitos de calcio) hacia el citoplasma como del influjo de calcio procedente del espacio extracelular a través de los canales del Ca^{2+} . Esta movilización del Ca^{2+} en el citoplasma pone en marcha la maquinaria de contracción de las células miométricas lo que conduce a contracciones uterinas (1 y 3).

Este análisis permite la medida de la inhibición de la movilización del calcio que ocurre por medio de OT/OT-R, por los compuestos de ensayo de la fórmula (I).

El FLIPR® es un dispositivo fluorimétrico de representación óptica que utiliza un láser (láser de argón ionizado) para iluminación y lectura simultáneas (cámara CCD enfriada) de cada uno de los pocillos de una placa de 96 pocillos, lo que permite de este modo realizar medidas rápidas de un gran número de muestras.

Preparación de las placas: Placas de FLIPR fueron revestidas previamente con PLL (Poli-L-Lisina) 10 µg/ml + gelatina al 0,1% para fijar células HEK293EBNA (células de riñón de embrión humano que expresan el receptor hOT) e incubadas durante 30 minutos hasta 2 días a 37°C. Las células fueron depositadas en placas de 96 pocillos (60.000 células/pocillo).

Marcado con fluo-4: 50 µg de fluo-4 (colorante fluorescente sensible al Ca²⁺) fueron disueltos en 20 µl de ácido plurónico (al 20% en DMSO). El fluo-4 disuelto se diluyó luego en 10 ml de medio de cultivo de DMEM (Medio Esencial Mínimo de Dubecco)-F12. Las placas fueron lavadas una vez con el medio DME-F12. 100 µl del medio DMEM-F12 que contenían el fluo-4 fueron añadidos a las células HEK que fueron incubadas durante 1,5-2 horas en este medio fluorescente. El fluo-4 es captado por el citoplasma de las células.

Tampón: NaCl 145 mM, KCl 5 mM, MgCl₂ 1 mM, Hepes 10 mM, Glucosa 10 mM, EGTA (ácido etilen-bis-oxtiilen-nitilotetraacético). El pH se ajustó a 7,4.

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

La fluorescencia relativa del Fluo-4 ($\lambda_{exc}=488$ nm, $\lambda_{em}=590$ nm) se midió después mediante el FLIPR en presencia o ausencia de compuestos de fórmula (I). Los movimientos del Ca²⁺ pueden ser detectados por la fluorescencia del marcador que es sensible a la cantidad de Ca²⁺. Entonces puede determinarse la capacidad de los compuestos de fórmula (I) para antagonizar la movilización del Ca²⁺ intracelular inducida por la oxitocina, mediada por el receptor de oxitocina.

Las actividades de los derivados de pirrolidina según la fórmula I fueron determinadas utilizando el ensayo biológico *in vitro* descrito. En la Tabla II se indican valores representativos para algunos compuestos de ejemplo. Los valores se refieren a la concentración de los compuestos de ensayo según la fórmula I necesaria para antagonizar el 50% de la movilización del Ca²⁺ intracelular de OT/OTR. De los valores obtenidos puede deducirse que dichos compuestos de ejemplo que se ajustan a la fórmula I, ponen de manifiesto una actividad importante como antagonistas del receptor de oxitocina.

TABLA II

Compuesto No.	Nombre (IUPAC)	Inhibición de la movilización del Ca ²⁺ hOT-R IC50 [µM]
1	(3EZ,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona, O-metiloxima	0,03
2	(3EZ,5S)-1-(1,1'-bifenil-4-ilcarbonil)-5-(hidroximetil)pirrolidin-3-ona, O-metiloxima	0,09
4	(3Z,5S)-1-(1,1'-bifenil-4-ilcarbonil)-5-(hidroximetil)pirrolidin-3-ona, O-metiloxima	0,01

c) Análisis funcional No. 2: Inhibición de la síntesis de IP3 (Inositol tri-fosfato) en células HEK/EBNA-OTR

La interacción de OT sobre el receptor de OT conduce a la síntesis de IP3, mensajero segundo para la liberación de Ca²⁺ desde el retículo sarcoplásmico, implicado en el proceso de desencadenamiento de la contracción uterina.

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

Estimulación de las células: Células HEK/EBNA OTR (de rata o humanas) son depositadas en placas de 12 pocillos costar, y equilibradas durante 15-24 horas con [³H]Inositol radiomarcado con 4 µCi/ml, con 1% de FCS (0,5 ml/pocillo) y sin suplemento de inositol. El medio que contenía el marcador es aspirado. Se añaden medio DMEM (sin FCS, inositol), Hepes 20 mM (ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazina-etanosulfónico), 1 mg/ml de BSA que conte-

ES 2 330 841 T3

nía LiCl 10 mM (recientemente preparado) y se incubó durante 10-15 minutos a 37°C. El agonista (es decir, oxitocina usada en una concentración 10 nM) y los antagonistas (es decir, los compuestos de ensayo de fórmula (I) que pueden ser usados en una concentración de 10 μ M, 1 μ M, 300 nM, 100 nM, 10 nM, 1 nM, 100 pM, 10 pM, 3 pM), pueden ser añadidos en el momento requerido (15-45 minutos), seguido de aspiración del medio. En presencia de OT, el inositol radiomarcado se convierte en IP3 radiomarcado. La antagonización de OT en el receptor de OT inhibe la formación de IP3.

La cantidad de IP3 radiomarcado puede determinarse mediante el tratamiento subsiguiente. La reacción se detiene con 1 ml de solución STOP (es decir, ácido perclórico 0,4 M) y dejando en reposo durante 5-10 minutos a temperatura ambiente. Después se hacen pasar 0,8 ml a tubos que contienen 0,4 ml de solución de neutralización (KOH 0,72 M/KHCO₃ 0,6M), y los tubos se agitan conformación de vórtice y se mantienen en frío 2 horas por lo menos.

Separación de IPs: Las muestras se centrifugan en una centrífuga de sobremesa a 3000-4000 rpm durante 15 minutos. 1 ml del sobrenadante se hace pasar a nuevos tubos que contienen 2,5 ml de H₂O. Se equilibra resina empaquetada (Dowex AG1X8) con 20 ml de H₂O y las muestras totales se vierten sobre las columnas cromatográficas, separando de este modo la mezcla. Para separar el inositol libre se llevan a cabo dos lavados con 10 ml de H₂O.

Elución de IPs totales: La elución se consigue usando 3 ml de formiato amónico 1M/ácido fórmico 0,1M. El eluido se recoge en tubos de recuento por centelleo después de la adición de 7 ml de líquido de centelleo. La cantidad de [³H]-IP3 se determina mediante un contador de centelleo.

La aptitud de los compuestos de fórmula (I) para antagonizar eficazmente la síntesis de IPS inducida por oxitocina, mediada por el receptor de oxitocina, puede ser determinada utilizando el ensayo biológico *in vitro* anteriormente descrito.

d) Modelo *in vivo* de inhibición de contracciones uterinas

El ensayo evalúa el efecto biológico de los compuestos ensayados en un modelo *in vivo* de parto anticipado, alumbramiento prematuro.

Ratas hembra Charles River CD (SD) BR no preñadas (de 9-10 semanas de edad, 200-250 g) fueron tratadas 18 y 24 horas antes del experimento con 250 μ g/kg de dietilestilbestrol (DES) administrado por vía i.p. Para el ensayo, los animales fueron anestesiados con uretano (1,75 g/kg, i.p.) y colocados en una mesa de operaciones homeotérmica. Se aisló la tráquea y se canuló con un tubo de polietileno (PE) adecuado. Se hizo una incisión en línea media al nivel del hipogastrio y se dejó al descubierto un cuerno uterino, se canuló su extremo cefálico con un tubo de PE240 y, después de llenar la cavidad interna con 0,2 ml de solución salina fisiológica, estéril, se conectó a un sistema "Gemini" de amplificación/registro mediante un transductor de presión de Gould Statham P23ID.

Se aisló una vena yugular, se canuló con un tubo de PE60 y se conectó a una aguja "mariposa" para proporcionar una vía de administración i.v. de los compuestos de ensayo por medio de una jeringuilla de distribución.

En el caso de administración intraduodenal de los compuestos de ensayo, el duodeno puede ser aislado y canulado de modo semejante a través de una pequeña incisión en su pared.

También puede ser aislada una arteria carótida y canulada con un catéter de PE60, y conectarse a una jeringuilla adecuada para recoger muestras de sangre.

Después de un período de estabilización y durante todo el experimento, la misma dosis de oxitocina se inyectó repetidamente por vía intravenosa a intervalos de 30 minutos. Cuando se obtuvieron respuestas contráctiles reproducibles del útero al mismo estímulo de OT (dosis seleccionada de oxitocina), se administró la dosis del ensayo o de la referencia (vehículo). Posteriores ciclos de inyección de la misma dosis de oxitocina fueron continuados (inyecciones de OT a intervalos de 30 minutos) durante un período de tiempo adecuado para determinar los efectos inhibidores y la reversibilidad de estos efectos.

La respuesta contráctil del útero a la oxitocina fue cuantificada midiendo la presión intrauterina y el número de contracciones. El efecto del compuesto de referencia y de los compuestos de ensayo fue evaluado por comparación de los valores de la presión antes y después del tratamiento. Además, se midieron las contracciones uterinas a los 5, 40, 75, 110, 145 y 180 minutos después de la administración de los compuestos de ensayo.

Las actividades de los derivados de pirrolidina reivindicados en la Fórmula I, pueden ser verificadas usando el ensayo biológico *in vivo* descrito. En la Tabla III se proporcionan valores representativos obtenidos para un compuesto de ejemplo. Los valores se refieren a la capacidad del compuesto de ejemplo según la Fórmula I, para antagonizar eficazmente en la rata las contracciones uterinas inducidas por oxitocina, administrado o bien por vía intravenosa o bien por vía oral 40 minutos después de la administración del compuesto de ensayo. De los valores que se muestran en la Tabla III puede deducirse que dicho compuesto de ensayo según la Fórmula I, que sirve de ejemplo, pone de manifiesto una actividad importante como tocolítico, es decir, agente de relajación uterina.

TABLA III

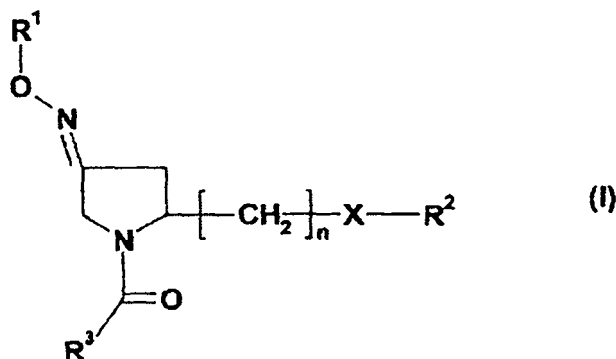
Compuesto No.	Nombre (IUPAC)	% de reducción de la contracción uterina	Dosis [mg/kg]
2	(3Z,5S)-1-(1,1'-bifenil-4-ilcarbonil)-5-(hidroximetil)pirrolidin-3-ona, O-metiloxima	39,8 ± 10,0	10 (per i.v.)
2	(3Z,5S)-1-(1,1'-bifenil-4-ilcarbonil)-5-(hidroximetil)pirrolidin-3-ona, O-metiloxima	50,9 ± 8,6	30 (per os)

Referencias bibliográficas

1. **Gimpl** G. and **Fahrenholz**, F. *Physiological Reviews* 2001, *81*, 629-683.
2. **Maggi**, M. *et al.* *J. Clin. Endocrinol. Metabol.* 1990, *70*, 1142-1154.
3. **Mitchell**, B. F. and **Schmid**, B. *J. Soc. Gynecol. Invest.* 2001, *8*, 122-33.
4. **Thorton**, S. *et al.*, *Experimental Physiology* 2001; *86*, 297-302.
5. **Evans** B.E. *et al.* *J. Med. Chem.* 1992, *35*, 3919-3927.
6. **Gennaro**, A.R. *et al.*, *Remington's Pharmaceutical Sciences*. 18th ed. Easton: The Mack Publishing Company, 1995.
7. T.W. **Greene** *et al.* *John Wiley & Sons Inc*, Third Ed. 1999.
8. R.C. **Larock**, *Wiley VCH* 1999.
9. E. **Breitmaier**, W. Voelter Carbon-13 NMR Spectroscopy, 3rd Ed, p. 240, VCH, 1987.
10. **Philip** J. Kocienski, in "Protecting Groups", Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York, 1994.
11. **Cook**, N.D. *et al.* *Pharmaceutical Manufacturing International*. 1992; p.49-53.

REIVINDICACIONES

1. Un derivado de pirrolidina de Fórmula I



sus isómeros geométricos, sus formas ópticamente activas tales como enantiómeros, diastereoisómeros, mezclas de ellos y sus formas racémicas, así como sus sales, en la que:

R¹ se selecciona entre el grupo que comprende o que consiste en H y alquilo de C₁-C₆ sustituido o sin sustituir;

R² se selecciona entre el grupo que comprende o que consiste en hidrógeno y grupos sustituidos o sin sustituir seleccionados entre: alquilo de C₁-C₆, aril-alquilo de C₁-C₆, heteroarilo, heteroaril-alquilo de C₁-C₆; alqueno de C₂-C₆, aril-alqueno de C₂-C₆, heteroaril-alqueno de C₂-C₆, alquino de C₂-C₆, aril-alquino de C₂-C₆, heteroaril-alquino de C₂-C₆, cicloalquilo de C₃-C₆, heterocicloalquilo, cicloalquil-alquilo de C₁-C₆, heterocicloalquil-alquilo de C₁-C₆, carboxi-alquilo de C₁-C₆, acilo, acil-alquilo de C₁-C₆, aciloxi-alquilo de C₁-C₆, alcoxi-alquilo de C₁-C₆, alcoxicarbonilo, alcoxicarbonil-alquilo de C₁-C₆, aminocarbonilo, aminocarbonil-alquilo de C₁-C₆, acilamino-alquilo de C₁-C₆, ureido-alquilo de C₁-C₆, amino, amino-alquilo de C₁-C₆, sulfonilo, sulfonilo-alquilo de C₁-C₆, sulfonilo, sulfonil-alquilo de C₁-C₆, sulfino, sulfino-alquilo de C₁-C₆, sulfanil-alquilo de C₁-C₆, sulfonilamino-alquilo de C₁-C₆;

R³ se selecciona entre el grupo que comprende o que consiste en arilo sustituido o sin sustituir y heteroarilo sustituido o sin sustituir,

X se selecciona entre el grupo que consiste en O ó NR⁴;

R⁴ se selecciona entre el grupo que comprende o consiste en H, alquilo de C₁-C₆ sustituido o sin sustituir, aril-alquilo de C₁-C₆ sustituido o sin sustituir, heteroaril-alquilo de C₁-C₆ sustituido o sin sustituir, arilo sustituido o sin sustituir, heteroarilo sustituido o sin sustituir; o

R² y R⁴ pueden formar junto con átomo de N al que están unidos, un anillo heterocíclico saturado o insaturado, de 5-8 miembros, sustituido o sin sustituir; y

n es un número entero desde 1 a 3.

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

3. Un derivado de pirrolidina según la reivindicación 1 ó 2, en el que R³ es fenilo.

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

5. Un derivado de pirrolidina según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que R² y R⁴ forman junto con el átomo de N al que están unidos un anillo de heterocicloalquilo de 5 ó 6 miembros.

6. Un derivado de pirrolidina según las reivindicaciones 1 a 4, en el que X es O ó NH.

7. Un derivado de pirrolidina según cualquiera de las reivindicaciones anteriores seleccionado entre el grupo que sigue:

(3EZ,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona, O-metiloxima;

(3EZ,5S)-1-(1,1'-bifenil-4-ilcarbonil)-5-(hidroximetil)pirrolidin-3-ona,O-metiloxima;

((3E,5S)-1-(1,1'-bifenil)-4-ilcarbonil)-5-(hidroximetil)pirrolidin-3-ona,O-metiloxima;

(3Z,5S)-1-(1,1'-bifenil-4-ilcarbonil)-5-[(4-metilpiperazin-1-il)metil]pirrolidin-3-ona, O-metiloxima;

{[(2S,4EZ)-1-(1,1'-bifenil-4-ilcarbonil)-4-(metoxiimino)pirrolidin-2-il]metoxi} acetato de terc-butilo;

ácido{[(2S,4EZ)-1-(1,1'-bifenil-4-ilcarbonil)-4-(metoxiimino)pirrolidin-2-il]metoxi}-acético;

2-{[(2S,4EZ)-1-(1,1'-bifenil-4-ilcarbonil)-4-(metoxiimino)pirrolidin-2-il]metoxi}-N-(2-pirrolidin-iletil)acetamida;

(3EZ,5S)-1-(1,1'-bifenil-4-ilcarbonil)-5-(metoximetil)pirrolidin-3-ona,O-metiloxima;

(3EZ,5S)-1-(1,1'-bifenil-4-ilcarbonil)-5-[(4-metilpiperazin-1-il)metil]pirrolidin-3-ona, O-metiloxima;

(3EZ,5S)-1-(1,1'-bifenil-4-ilcarbonil)-5-{[(4-metoxifenil)amino]metil}pirrolidin-3-ona, O-metiloxima;

(3EZ,5S)-1-(1,1'-bifenil-4-ilcarbonil)-5-({[2-(1H-pirazol-1-il)etil]amino}metil)pirrolidin-3-ona, O-metiloxima;

2-{[(2S,4EZ)-1-(1,1'-bifenil-4-ilcarbonil)-4-(metoxiimino)pirrolidin-2-il]metil}-1H-isindol-1,3(2H)-diona;

(3EZ,5S)-5-(aminometil)-1-(1,1'-bifenil-4-ilcarbonil)pirrolidin-3-ona, O-metiloxima;

N-{[(2S,4EZ)-1-(1,1'-bifenil-4-ilcarbonil)-4-(metoxiimino)pirrolidin-2-il]metil}acetamida;

(3EZ,5S)-1-(1,1'-bifenil-4-ilcarbonil)-5-(piperidin-1-ilmetil)pirrolidin-3-ona,O-metil-oxima;

(3EZ,5S)-1-(1,1'-bifenil-4-ilcarbonil)-5-(2-hidroxietil)pirrolidin-3-ona,O-metiloxima.

8. Un derivado de pirrolidina según cualquiera de las reivindicaciones anteriores para usar como medicamento.

9. Un derivado de pirrolidina según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 así como sus isómeros, sus formas ópticamente activas tales como enantiómeros, diastereoisómeros y su mezclas, así como sus sales, para usar en la prevención y/o tratamiento del parto anticipado, el alumbramiento prematuro o la dismenorrea.

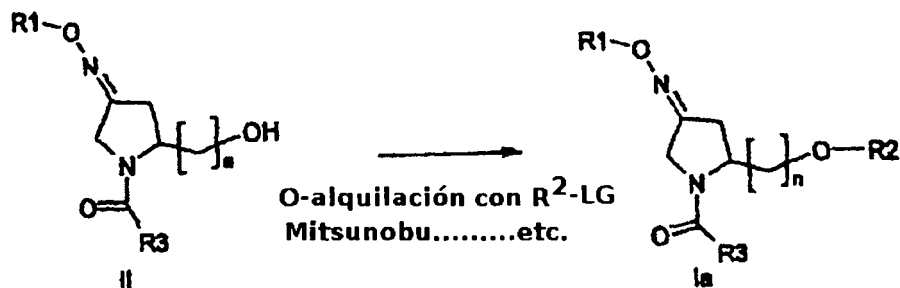
10. Un derivado de pirrolidina según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, para usar en el tratamiento de trastornos que requieren la modulación del receptor de oxitocina.

11. El derivado de pirrolidina según la reivindicación 10, para usar en el tratamiento o prevención de trastornos asociados con la actividad del receptor de oxitocina.

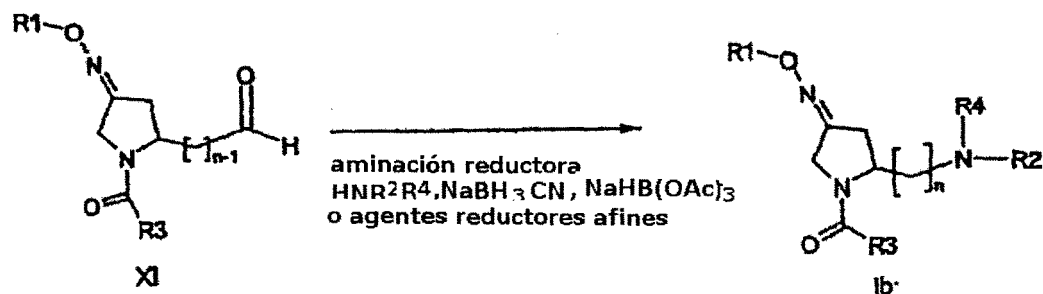
12. El derivado de pirrolidina según la reivindicación 10 u 11, en el que dicha modulación consiste en el bloqueo del receptor de oxitocina o en la antagonización de la unión de oxitocina a su receptor.

13. Una composición farmacéutica que contiene un derivado de pirrolidina según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

14. Un procedimiento de preparación de un derivado de pirrolidina según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que X es O, que comprende la etapa de una O-alquilación de derivados de alcoholes de fórmula (II) con un agente de alquilación R²-LG en cuya fórmula LG es un grupo eliminable, siendo R¹, R², R³ y n según se ha definido en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5,



15. Un procedimiento de preparación de un derivado de pirrolidina según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que X es NR^4 , que comprende la etapa de aminación reductora de un derivado de un aldehído de fórmula (XI) con una amina HNR^2R^4 en cuyas fórmulas R^1 , R^2 , R^3 , R^4 y n son como se ha definido en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5.



16. El uso de un derivado de pirrolidina según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 para preparar un medicamento para:

- (i) la prevención y/o tratamiento del parto anticipado, el alumbramiento prematuro o la dismenorrea; o
- (ii) el tratamiento de trastornos que requieren la modulación del receptor de oxitocina.