



19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 336 933**

51 Int. Cl.:  
**C07D 207/26** (2006.01)  
**A61K 31/4015** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **05817059 .8**  
96 Fecha de presentación : **05.12.2005**  
97 Número de publicación de la solicitud: **1824819**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **29.08.2007**

54 Título: **Derivados de pirrolidin-2-ona para usar como antagonistas del receptor DP<sub>1</sub>.**

30 Prioridad: **06.12.2004 US 633612 P**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**19.04.2010**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**19.04.2010**

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

72 Inventor/es: **Araldi, Gian Luca**

74 Agente: **Carpintero López, Mario**

ES 2 336 933 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 pirrolidin-2-ona para usar como antagonistas del receptor DP<sub>1</sub>.

5 La presente invención se refiere en general a derivados de pirrolidin-2-ona y a procedimientos y composiciones que emplean dichos compuestos. En realizaciones particulares, los compuestos son útiles como agonistas del receptor DP<sub>1</sub>.

10 Las prostaglandinas (PG), miembros de la familia prostanoides, se forman por las acciones de las ciclooxigenasas 1 y 2 sobre el ácido araquidónico. Las actividades biológicas de las PG incluyen, por ejemplo, contracción y relajación de músculo liso, inhibición y potenciación de la liberación de neurotransmisores, inhibición de la lipólisis, inhibición de la secreción gástrica, inhibición de la liberación mediada por inflamación (Coleman *et al.*, Prostanoids and Their Receptors. In Comprehensive Medicinal Chemistry, vol. 3 Ed. J. C. Emmett, 643-714, Pergamon Press, Oxford, UK, 1990) que están mediadas por diferentes subtipos de receptores. Hasta la fecha, hay al menos 8 receptores conocidos  
15 que median en la acción de las PG. La PGE<sub>2</sub> tiene 4 subtipos de receptores (receptores EP<sub>1-4</sub>), mientras que las PG D<sub>2</sub>, F<sub>2</sub>, I<sub>2</sub>, y tromboxano (TX) A<sub>2</sub> tiene cada una un solo receptor (receptores DP, FP, IP, y TP, respectivamente; Narumiya *et al.*, *Physiol Rev.* 79:1193-1226 1999). Otras descripciones de estos receptores pueden encontrarse, por ejemplo, en las Patentes de Estados Unidos N° 5.606.814 y 5.759.789.

20 Los estudios con ratones con eliminación génica que carecen de cada tipo y sub-tipo del receptor EP son instructivos con respecto a los papeles de los diferentes receptores de prostaglandinas. Por ejemplo, los ratones que carecen de receptores EP mostraron diferentes papeles para los diversos tipos y subtipos diferentes de receptores EP (Ushikubi *et al.* *Jpn. J. Pharmacol.*, 83, 279-285, 2000) en diversos mecanismos tales como ovulación, control de la presión sanguínea, cierre de conductos arteriosos y resorción ósea. Se ha informado sobre otros papeles de los receptores EP  
25 tales como relajación de músculo liso en tráquea de gato para EP<sub>2</sub>, vasodilatación para EP<sub>4</sub> (Gardinier, *Br. J. Pharmac.* 1986, 87, 45-56; Coleman *et al.* 1994 *Pharmacological Reviews* 46 (2), 205-229) y actividad anti-inflamatoria para EP<sub>4</sub> (Takayama *et al.*, *The Journal of Biological Chemistry*, 277, 46, 44147-44154, 2002). La prostaglandina renal E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) es crucial para una función renal normal dilatando la microcirculación glomerular y los vasos rectos, suministrando la médula renal y modulando el transporte de sal y agua en el túbulo distal. Hay múltiples (al menos dos)  
30 tipos de receptores para DP. Estudios similares a los estudios del receptor EP serían instructivos sobre los papeles de los diferentes receptores DP.

35 La prostaglandina E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) es un ligando natural para todos los sub-tipos del receptor EP. Por consiguiente, es difícil conseguir efectos selectivos sobre uno de los sub-tipos del receptor EP con las prostaglandinas endógenas.

Se ha informado ampliamente sobre ciertos receptores y moduladores prostanoides de estos receptores (Eicosanoids: From Biotechnology to Therapeutic Applications (Plenum Press, Nueva York); *Journal of Lipid Mediators and Cell Signalling* 14: 83-87 (1996); *The British Journal of Pharmacology*, 112: 735-740 (1994); WO 96/06822; WO 97/00863; WO 97/00864; WO 96/03380; EP 752421; US 6.211.197, US 4.211.876; US 3.873.566; y Bennett *et al.* *J. Med. Chem.*, 19 (5): 715-717 (1976).  
40

Se ha informado sobre ciertos ligandos y análogos de prostaglandinas que proporcionan actividad biológica asociada con prostaglandinas (documentos U.S. 6.288.120; US 6.211.197; US 4.090.019; US 4.033.989; US 4.003.911). Se ha informado de que los efectos de la prostaglandina tipo E están mediados por la interacción con los receptores de prostaglandinas E). Ciertos compuestos también se han presentado como agonistas de EP<sub>4</sub> (documentos WO 02/24647, EP1110949A1, WO 03/009872 y WO 03/007941).  
45

Las Patentes de Estados Unidos 4.156.730; 4.138.407 y 4.299.970 se refieren todas a hidroxipirrolidinona que tiene actividad de secreción anti-gástrica, actividad anti-úlceras, actividad cardiovascular, actividad anti-hipertensora, actividad de inhibición de la agregación de plaquetas, actividad broncodilatadora, actividad anti-fertilidad y del músculo liso.  
50

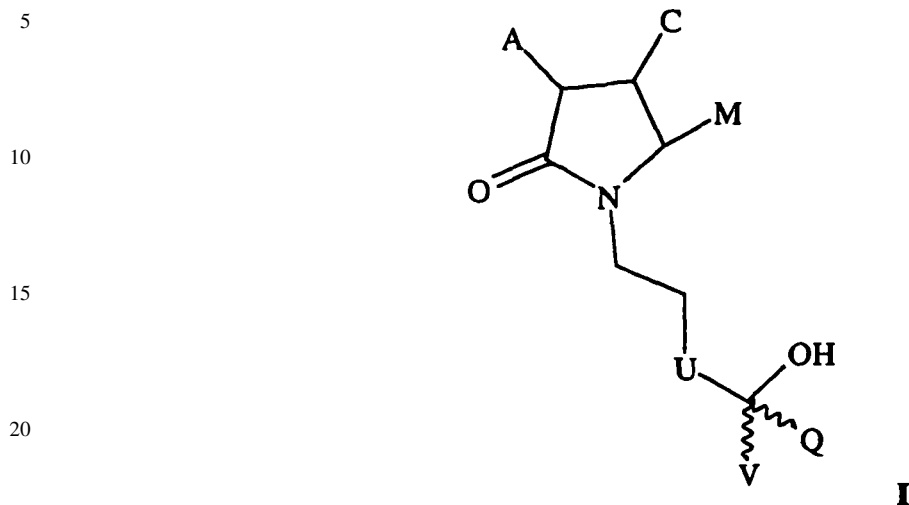
El objetivo de la invención es proporcionar nuevos compuestos y el uso de estos compuestos para el tratamiento de enfermedades y trastornos asociados con la familia de compuestos de prostaglandina.  
55

60

65

## ES 2 336 933 T3

Esto se consigue mediante compuestos que pueden usarse como agonistas de los receptores de prostaglandinas. Más específicamente, la memoria descriptiva describe procedimientos y composiciones para preparar y usar agonistas del receptor DP<sub>1</sub> que son derivados de pirrolidin-2-ona. Ejemplos de dichos compuestos tienen la fórmula I:



25 en la que

cada uno de A y C es independientemente hidrógeno,

M se selecciona entre el grupo constituido por alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>7</sub> opcionalmente sustituido, alqueno C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alquino C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> y -(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>-B en la que B se selecciona entre el grupo que comprende arilo carbocíclico opcionalmente sustituido, heterocíclico opcionalmente sustituido que tiene de 3 a 8 átomos en el anillo y al menos un átomo de N, O o S en el anillo y un grupo heteroaromático que tiene un solo anillo con 5 ó 6 átomos en el anillo y al menos un átomo de N, O o S en el anillo; en la que q en “-(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>-B” se selecciona entre 1, 2, 3 y 4;

U es (CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub> en la que p se selecciona entre 0, 1 y 2;

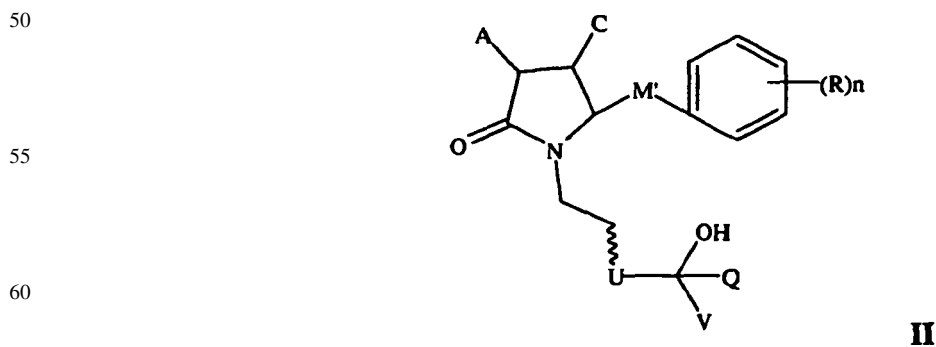
35 cada uno de V y Q es independientemente hidrógeno, alquilo opcionalmente sustituido, alqueno opcionalmente sustituido, alquino opcionalmente sustituido, heteroalquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, heterocicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, arilalquilo, -CR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>-W, en la que R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> se seleccionan independientemente entre H y alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>; o R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> pueden formar un cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> con el carbono al que están unidos;

40 W se selecciona entre hidrógeno, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, arilo y heteroarilo; siendo al menos uno de V y Q distinto de hidrógeno; y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos. En los compuestos particularmente preferidos, cada uno de A y C es hidrógeno.

45 Preferiblemente, B es arilo carbocíclico opcionalmente sustituido.

Más preferiblemente, B es fenilo opcionalmente sustituido.

La invención se refiere adicionalmente a compuestos que tienen la Fórmula II:



en la que

65 M' se selecciona entre el grupo constituido por alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>7</sub> opcionalmente sustituido, alqueno C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, y alquino C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>;

## ES 2 336 933 T3

R es C(=O)Z donde Z se selecciona entre hidrógeno, hidroxilo, alcoxi opcionalmente sustituido y alquilo opcionalmente sustituido; o R es amino o alquilamina opcionalmente sustituida;

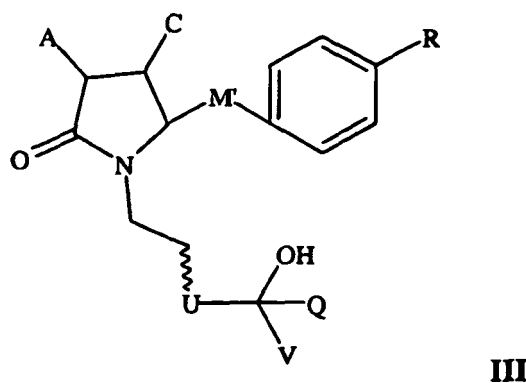
U es (CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub> en la que p se selecciona entre 0, 1 y 2;

cada uno de V y Q se selecciona independientemente entre hidrógeno, alquilo opcionalmente sustituido, alqueno opcionalmente sustituido, alquino opcionalmente sustituido, heteroalquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, heterocicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, arilalquilo y -CR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>-W, en la que R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> se seleccionan independientemente entre H y alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>; o R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> pueden formar un cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> con el carbono al que están unidos; y

W se selecciona entre hidrógeno, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, arilo y heteroarilo; siendo al menos uno de V y Q distinto de hidrógeno; y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Preferiblemente, n es 1 ó 2.

También, la invención se refiere a compuestos que tienen la siguiente Fórmula III:



en la que

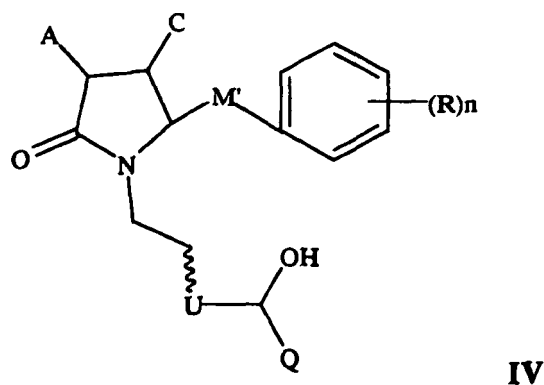
M' se selecciona entre el grupo constituido por alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>7</sub> opcionalmente sustituido, alqueno C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, y alquino C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>;

R es C(=O)Z donde Z se selecciona entre hidrógeno, hidroxilo, alcoxi opcionalmente sustituido y alquilo opcionalmente sustituido; o R es amino o alquilamina opcionalmente sustituida;

U es (CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub> en la que p se selecciona entre 0, 1 y 2; cada uno de V y Q se selecciona independientemente entre hidrógeno, alquilo opcionalmente sustituido, alqueno opcionalmente sustituido, alquino opcionalmente sustituido, heteroalquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, heterocicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, arilalquilo y -CR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>-W, en la que R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> se seleccionan independientemente entre H y alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>; o R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> pueden formar un cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> con el carbono al que están unidos;

W se selecciona entre hidrógeno, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, arilo y heteroarilo; siendo al menos uno de V y Q distinto de hidrógeno; y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Adicionalmente, la invención se refiere a compuestos de la reivindicación 1 que tienen la siguiente Fórmula IV:



en la que

M' se selecciona entre el grupo constituido por alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>7</sub> opcionalmente sustituido, alqueno C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, y alquino C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>;

## ES 2 336 933 T3

R es C(=O)Z donde Z se selecciona entre hidrógeno, hidroxilo, alcoxi opcionalmente sustituido y alquilo opcionalmente sustituido; o R es amino o alquilamina opcionalmente sustituida; n es un número entero seleccionado entre 0, 1, 2, 3, 4 y 5;

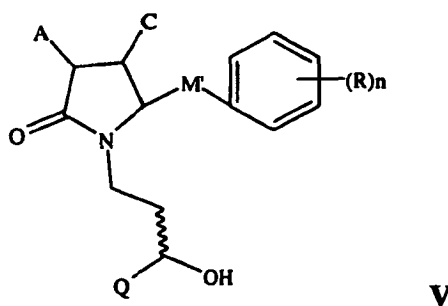
5 U es (CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub> en la que p se selecciona entre 0, 1 y 2;

Q es alquilo opcionalmente sustituido, que preferiblemente tiene de 1 a aproximadamente 12 átomos de carbono, alqueno opcionalmente sustituido que preferiblemente tiene de 2 a aproximadamente 12 átomos de carbono, alquino opcionalmente sustituido que preferiblemente tiene de 2 a aproximadamente 12 átomos de carbono, heteroalquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, cicloalquil C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, heterocicloalquil C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, aril alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> y -CR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>-W, en la que R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> se seleccionan independientemente entre H y alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>; o R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> pueden formar un cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> con el carbono al que están unidos;

15 W se selecciona entre hidrógeno, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, cicloalquil C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, arilo, heteroarilo y aril alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>; y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Preferiblemente, p es cero.

20 Adicionalmente la invención se refiere a compuestos que tienen la siguiente Fórmula V



35 en la que

M' se selecciona entre el grupo constituido por alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>7</sub> opcionalmente sustituido, alqueno C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, y alquino C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>;

40 R es C(=O)Z donde Z se selecciona entre hidrógeno, hidroxilo, alcoxi opcionalmente sustituido y alquilo opcionalmente sustituido; o R es amino o alquilamina opcionalmente sustituida; n es un número entero seleccionado entre 0, 1, 2, 3, 4 y 5;

45 Q se selecciona entre alquilo opcionalmente sustituido, alqueno opcionalmente sustituido, alquino opcionalmente sustituido, arilalquilo opcionalmente sustituido, heteroalquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, cicloalquil C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, heterocicloalquil C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, aril alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> y -CR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>-W, en la que R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> se seleccionan independientemente entre H y alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>; o R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> pueden formar un cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> con el carbono al que están unidos;

50 W se selecciona entre hidrógeno, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, cicloalquil C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, arilo, heteroarilo y aril alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>; y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Preferiblemente, n es 1 y R es un sustituyente en la posición para.

55 También, preferiblemente R es -C(O)OH.

También se prefiere que Q sea alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> lineal o ramificado o arilalquilo opcionalmente sustituido.

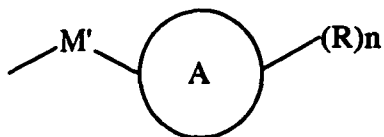
60 Adicionalmente, se prefiere que cuando R es -C(O)OH esté en una posición "para" con lo que n es 1; Q es CR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>-W, en la que R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> se seleccionan independientemente entre H y alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>; o R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> pueden formar un cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> con el carbono al que están unidos; W se selecciona entre hidrógeno, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alqueno C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, cicloalquil C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, arilo, heteroarilo y aril alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>; y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

65 Preferiblemente, cuando R es -C(O)OH está en una posición "para"; n es 1; Q es CR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>-W, en la que R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> se seleccionan independientemente entre H y alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>; o R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> pueden formar un cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> con el carbono al que están unidos; W se selecciona entre hidrógeno, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, cicloalquil C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, y arilo; y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

# ES 2 336 933 T3

La invención se refiere también a compuestos en los que M tiene una fórmula:

5



10

en la que

15

M' se selecciona entre el grupo constituido por alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>7</sub> opcionalmente sustituido, alquenilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, y alquinilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>;

20

A se selecciona entre el grupo constituido por piridilo, pirrolilo, furilo (furanilo), 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, quinolizinilo, quinazolinilo, 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-tetrahydroquinolilo, 5,6,7,8-tetrahydroisoquinolilo, purinilo, pteridinilo, carbazolilo, xantenilo y benzoquinolilo opcionalmente sustituidos; y

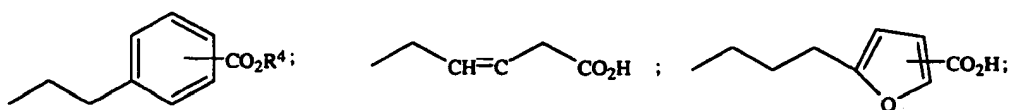
25

R es C(=O)Z donde Z se selecciona entre hidrógeno, hidroxilo, alcoxi opcionalmente sustituido y alquilo opcionalmente sustituido; o R es amino o alquilamina opcionalmente sustituida; n es un número entero seleccionado entre 0, 1, 2, 3, 4 y 5.

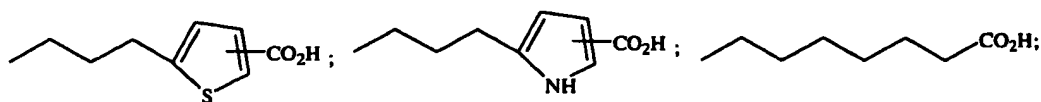
30

Se prefiere que M se seleccione entre el grupo constituido por:

35

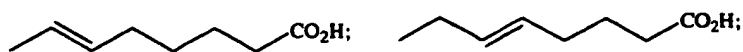


40



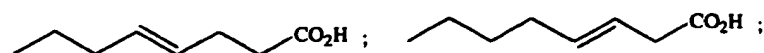
45

50



55

60



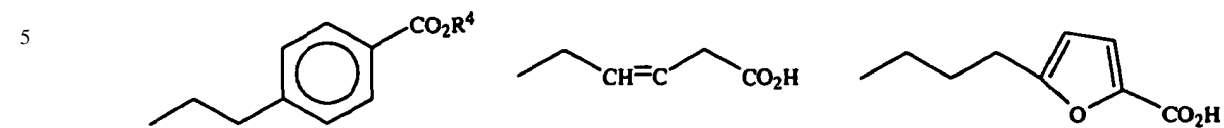
y

65



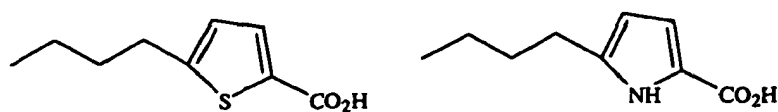
## ES 2 336 933 T3

Se prefiere también que M se seleccione entre el grupo constituido por



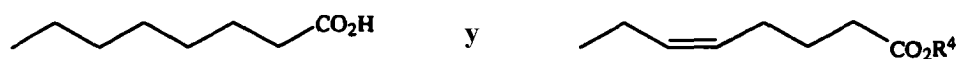
10

15



20

25

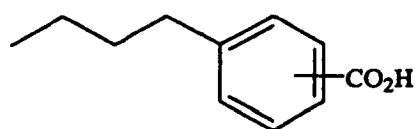


en la que R<sup>4</sup> se selecciona entre el grupo constituido por H, un grupo alquilo, un grupo arilo o una sal.

30

Preferiblemente, M es

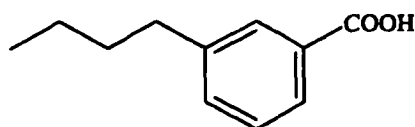
35



40

También, M es

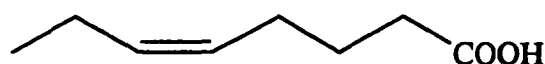
45



50

Se prefiere que M sea

55



60

Más preferiblemente, el compuesto se selecciona entre el grupo constituido por:

ácido 4-(3-(2*S*)-1-[(3*R*)-3-ciclohexil-3-hidroxiopropil]-5-oxotetrahydro-1*H*-2-pirrolilpropil)benzoico.

ácido 4-(3-(2*S*)-1-[(3*S*)-3-ciclohexil-3-hidroxiopropil]-5-oxotetrahydro-1*H*-2-pirrolilpropil)benzoico.

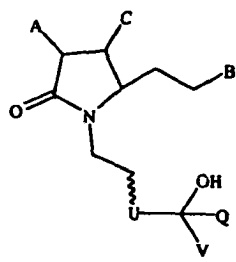
65

ácido 7-[(2*S*)-1-[(3*R*)-3-ciclohexil-3-hidroxiopropil]-5-oxopirrolidin-2-il]heptanoico y

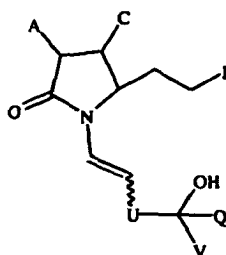
ácido 7-[(2*S*)-1-[(3*R*)-3-ciclohexil-3-hidroxiopropil]-5-oxopirrolidin-2-il]heptanoico.

La invención se refiere también a un compuesto de cualquiera de las siguientes fórmulas:

5



I.2

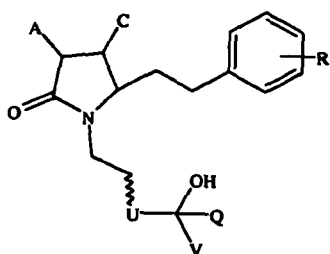


I.3

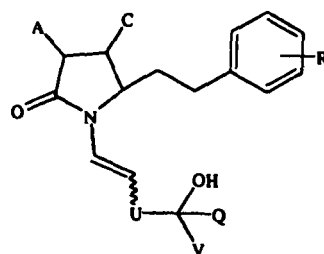
10

15

20



II.2

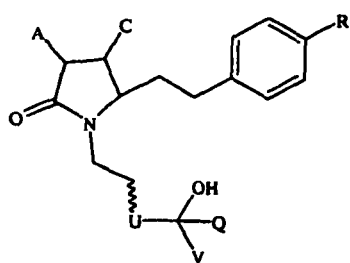


II.3

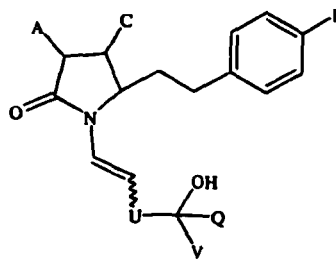
25

30

35



III.2



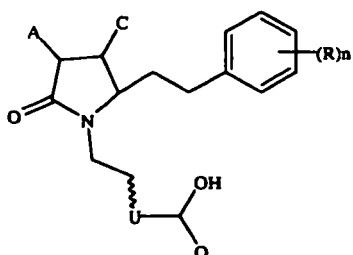
III.3

40

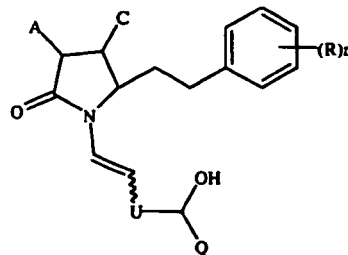
45

50

55



IV.2

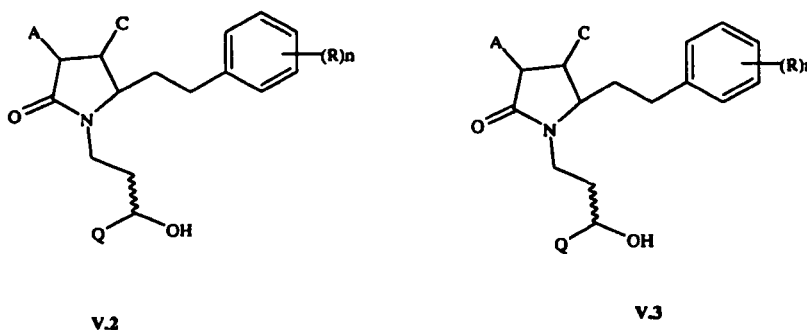


IV.3

60

65

## ES 2 336 933 T3



en las que cada uno de A y C es independientemente hidrógeno o hidroxilo;

B se selecciona entre el grupo que comprende arilo carbocíclico opcionalmente sustituido, heteroalíclico opcionalmente sustituido que tiene de 3 a 8 átomos en el anillo y al menos un átomo de N, O o S en el anillo y un grupo heteroaromático que tiene un solo anillo con 5 ó 6 átomos en el anillo y al menos un átomo de N, O o S en el anillo;

R es C(=O)Z donde Z se selecciona entre hidrógeno, hidroxilo, alcoxi opcionalmente sustituido y alquilo opcionalmente sustituido; o R es amino o alquilamina opcionalmente sustituida;

n es un número entero seleccionado entre 0, 1, 2, 3, 4 y 5;

U es (CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub> en la que p se selecciona entre 0, 1 y 2;

cada uno de V y Q se selecciona independientemente entre hidrógeno, alquilo opcionalmente sustituido, alqueno opcionalmente sustituido, alquino opcionalmente sustituido, heteroalquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, heterocicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, arilalquilo y -CR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>-W, en la que R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> se seleccionan independientemente entre H y alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>; o R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> pueden formar un cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> con el carbono al que están unidos; y

W se selecciona entre hidrógeno, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, arilo y heteroarilo; siendo al menos uno de V y Q distinto de hidrógeno; y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Además de los compuestos específicos descritos en detalle en el presente documento, la presente invención proporciona adicionalmente cualquiera de dichos compuestos para usarlos como un medicamento. También, los compuestos descritos en el presente documento se contemplan para usarlos en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad o trastorno asociado con deficiencia de prostaglandinas.

La invención proporciona adicionalmente el uso de los compuestos anteriores para la fabricación de un medicamento para tratar a un mamífero que padece o es susceptible de padecer ictiosis, xeroftalmía, un trastorno del sueño, úlceras gástricas, contracción muscular indeseada, trastornos inflamatorios, disfunción eréctil, asma, hipertensión, coagulación de la sangre indeseada, infertilidad o un trastorno de la fertilidad, trastorno eosinófilo, disfunción sexual, glaucoma, presión intraocular elevada, disfunción renal, una enfermedad o trastorno por deficiencia inmune, SIDA, y pérdida ósea indeseada. El mamífero puede ser un animal doméstico, animales de compañía, animales de zoo o un animal de laboratorio. En realizaciones específicas, el mamífero se selecciona entre el grupo constituido por vacas, ovejas, cerdos, caballos y cabras, animales de compañía tales como perros y gatos, animales exóticos y/o de zoo, animales de laboratorio incluyendo ratones, ratas, conejos, cobayas y hámsteres. En las realizaciones preferidas, el mamífero es un ser humano. El mamífero puede ser hombre o mujer. En las realizaciones en las que el mamífero es una mujer, la mujer puede ser una que padezca o que sea susceptible de padecer parto prematuro, dismenorrea, preeclampsia o eclampsia. En otras realizaciones la mujer en necesidad de tratamiento está en la última fase del embarazo y en necesidad de controlar la maduración del cuello del útero. En otras realizaciones, padece o es susceptible de padecer infertilidad. En otras realizaciones más, el uso de la invención es útil en el tratamiento de una mujer que padece un trastorno ovulatorio.

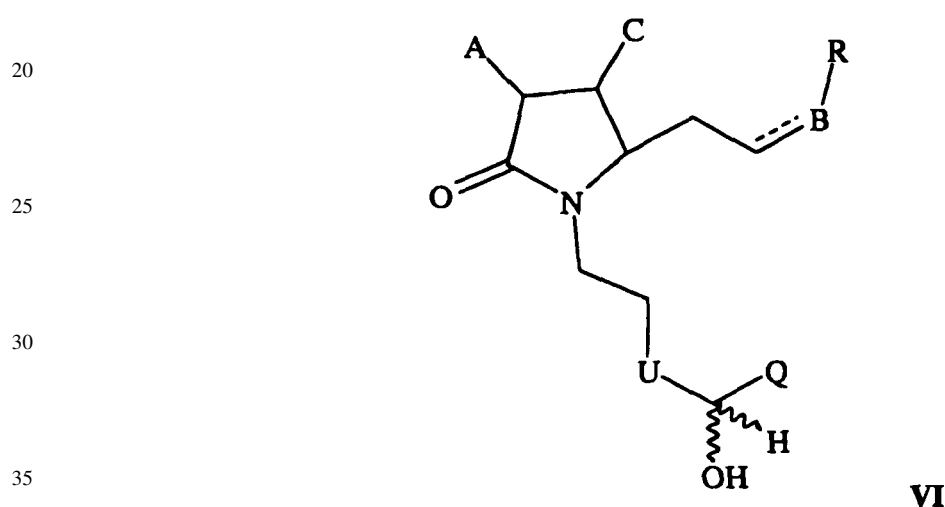
De esta manera, el uso de la invención se refiere también a tratar parto prematuro, dismenorrea, asma, hipertensión, un trastorno de la fertilidad, coagulación de la sangre indeseada, preeclampsia, eclampsia, un trastorno eosinófilo, pérdida ósea indeseada, disfunción sexual, disfunción renal, un trastorno por deficiencia inmune, xeroftalmía, ictiosis, presión intraocular elevada, un trastorno del sueño, una úlcera gástrica, un trastorno inflamatorio o disfunción eréctil.

La invención se refiere también a los compuestos anteriores para usarlos para el tratamiento de una enfermedad o trastorno asociado con deficiencias de prostaglandina, contracción muscular indeseada, infertilidad, glaucoma, SIDA, parto prematuro, dismenorrea, asma, hipertensión, un trastorno de la fertilidad, coagulación de la sangre indeseada, preeclampsia, eclampsia, un trastorno eosinófilo, pérdida ósea indeseada, disfunción sexual, disfunción renal, un trastorno por deficiencia inmune, xeroftalmía, ictiosis, presión intraocular elevada, un trastorno del sueño, una úlcera gástrica, un trastorno inflamatorio o disfunción eréctil.

## ES 2 336 933 T3

La presente invención se refiere adicionalmente a composiciones farmacéuticas que comprenden un vehículo farmacéuticamente aceptable y uno o más de los derivados de pirrolidin-2-ona descritos en el presente documento. En realizaciones más particulares, el compuesto de la composición farmacéutica se envasa junto con instrucciones para usar el compuesto para tratar parto prematuro, dismenorrea, asma, hipertensión, infertilidad o un trastorno de la fertilidad, disfunción sexual, coagulación de la sangre indeseada, una enfermedad o trastorno óseo destructivo, preeclampsia o eclampsia, un trastorno eosinófilo, disfunción renal, un trastorno por deficiencia inmune, xeroftalmía, ictiosis, presión intraocular elevada, trastorno del sueño, o úlcera gástrica.

En el presente documento también se describe el uso de los compuestos anteriores para la fabricación de un medicamento para tratar una afección de la fertilidad en una mujer, que comprende la administración a dicha mujer de un agonista del receptor DP<sub>1</sub> de prostaglandina, un pro-fármaco del mismo o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto, pro-fármaco o una mezcla diastereoisomérica de dicho compuesto, sal o pro-fármaco. En realizaciones específicas, la afección es infertilidad. En otras realizaciones más particulares, la afección es un trastorno ovulatorio. En otras realizaciones más, la mujer está experimentando inducción de la ovulación o tratamientos ART. En el uso particularmente preferido de la invención, el agonista del receptor DP<sub>1</sub> de prostaglandina se selecciona entre los compuestos de fórmula VI:



en la que cada uno de A y C es independientemente H,

B se selecciona entre el grupo constituido por alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido, aril alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido, aril heteroalquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido, heteroaril alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido, cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido y heterocicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido, con la condición de que cuando B es arilo opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido, cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido y heterocicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido, el enlace no definido que une B es un enlace sencillo;

La línea de puntos indica un doble enlace opcional;

R es C(=O)Z donde Z se selecciona entre hidrógeno, hidroxilo, alcoxi opcionalmente sustituido y alquilo opcionalmente sustituido; o R es amino o alquilamina opcionalmente sustituida; n es un número entero seleccionado entre 0, 1, 2, 3, 4 y 5;

U es (CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub> en la que p se selecciona entre 0, 1 y 2;

Q es alquilo opcionalmente sustituido, que preferiblemente tiene de 1 a aproximadamente 12 átomos de carbono, alqueno opcionalmente sustituido que preferiblemente tiene de 2 a aproximadamente 12 átomos de carbono, alquino opcionalmente sustituido que preferiblemente tiene de 2 a aproximadamente 12 átomos de carbono, heteroalquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, cicloalquil C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, heterocicloalquil C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, aril alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> y -CR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>-W, en la que R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> se seleccionan independientemente entre H y alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>; o R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> pueden formar un cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> con el carbono al que están unidos;

W se selecciona entre hidrógeno, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, cicloalquil C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, arilo, heteroarilo y aril alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>; y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Más particularmente, el agonista del receptor DP<sub>1</sub> de prostaglandina se selecciona entre compuestos de fórmula VI en la que A es H; B es alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> con lo que B está unido mediante un enlace sencillo; R es C(=O)Z en la que Z se selecciona entre hidrógeno, hidroxilo, alcoxi tal como -O-alquilo y alquilo; o Z se selecciona entre amino o alquilamina

## ES 2 336 933 T3

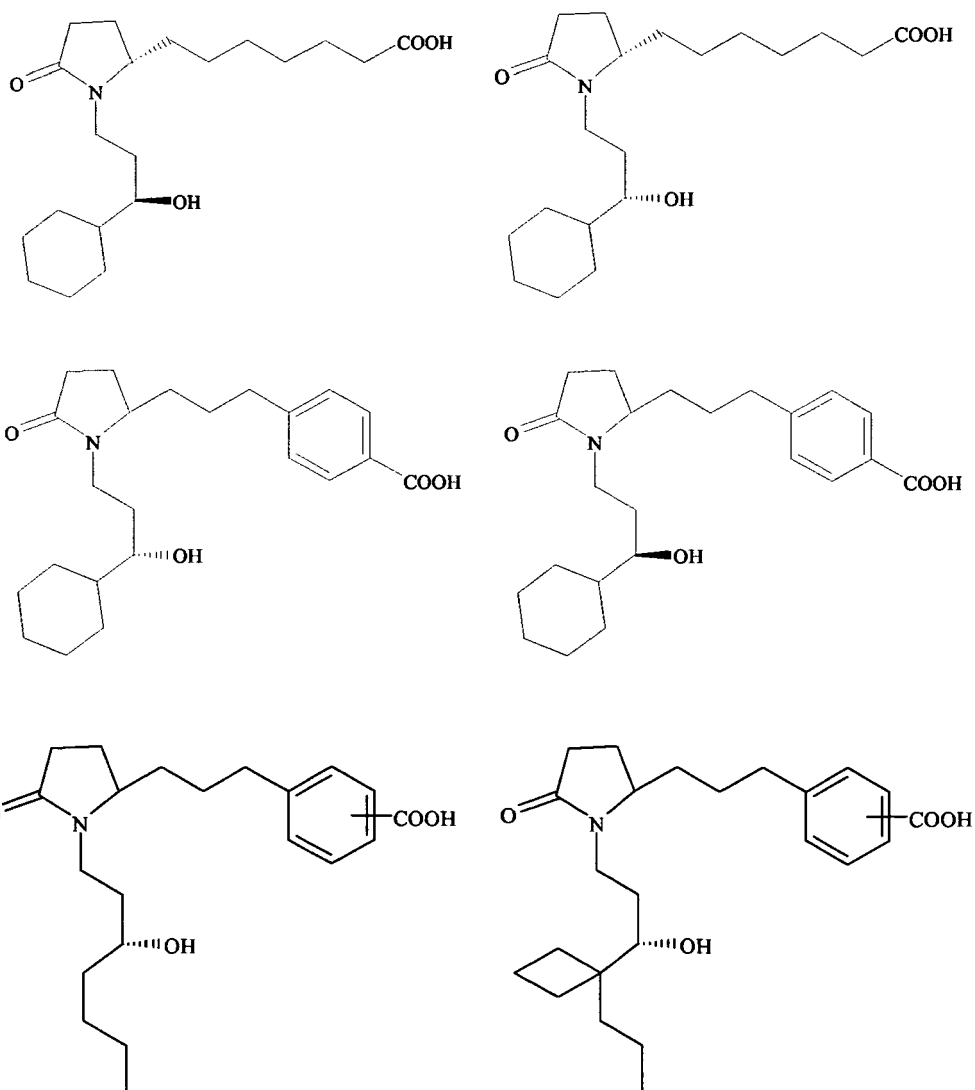
tal como  $-NR^1R^2$  donde  $R^1$  y  $R^2$  son independientemente hidrógeno o alquilo,  $-NHSO_2R^3$  y  $-NHC(O)R^3$  en la que  $R^3$  se selecciona entre alquilo  $C_1-C_6$  y arilo; U es  $(CH_2)_p$  en la que p es 0; Q es  $-CR^4R^5-W$ , en la que  $R^4$  y  $R^5$  se seleccionan independientemente entre H, halógeno y alquilo  $C_1-C_6$ ; W se selecciona entre cicloalquilo  $C_3-C_6$ , heterocicloalquilo  $C_3-C_6$ , arilo opcionalmente sustituido y heteroarilo; y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

En otras realizaciones más, el agonista del receptor  $DP_1$  de prostaglandina se selecciona entre compuestos de fórmula VI en la que A es H; B es alquilo  $C_1-C_6$ ; R es  $C(=O)Z$  en la que Z se selecciona entre hidrógeno, hidroxilo, alcoxi; o R es heteroarilo; U es  $(CH_2)_p$  en la que p es 0; Q es  $-CH_2-W$ , en la que W se selecciona entre cicloalquilo  $C_3-C_6$ , heterocicloalquilo  $C_3-C_6$ , arilo y heteroarilo; y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

En otras realizaciones adicionales más, el agonista del receptor  $DP_1$  de prostaglandina se selecciona entre compuestos de fórmula VI en la que A es H; B se selecciona entre aril alcoxi  $C_1-C_6$ ,  $-CH_2$ -arilo y  $-CH_2$ -heteroarilo con lo que B está unido mediante un enlace sencillo; R es  $C(=O)Z$  en la que Z se selecciona hidrógeno, hidroxilo y alcoxi; o R es heteroarilo; U es  $(CH_2)_p$  en la que p es 0; Q es  $-CH_2-W$ , en la que W se selecciona entre cicloalquilo  $C_3-C_6$ , heterocicloalquilo  $C_3-C_6$ , arilo y heteroarilo; y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

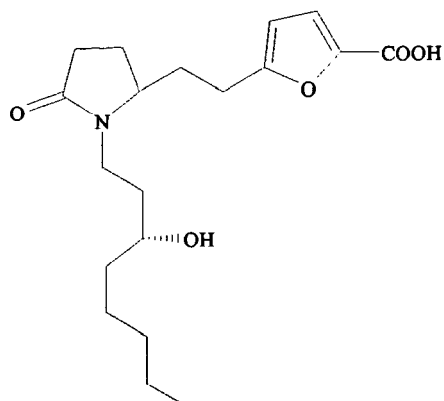
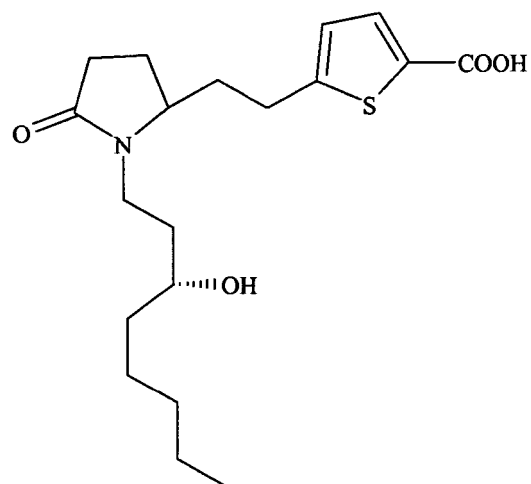
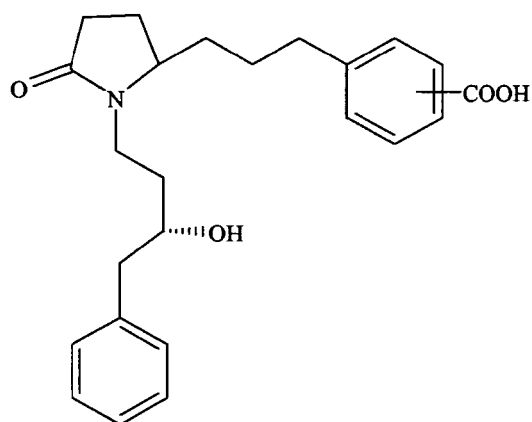
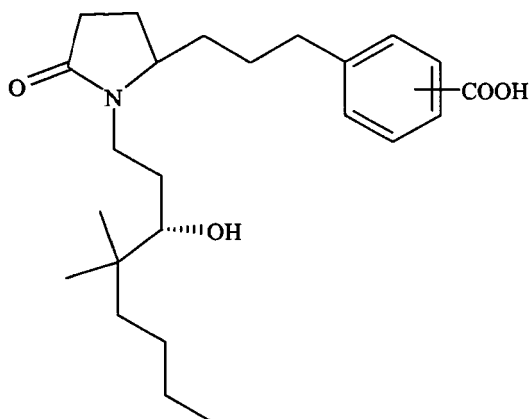
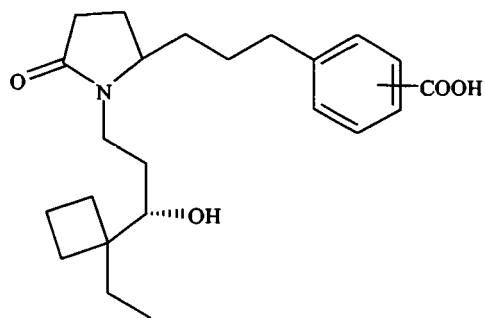
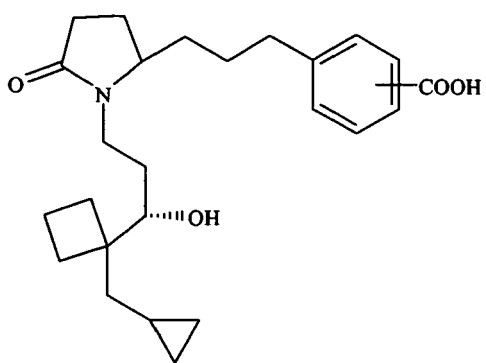
En otras realizaciones adicionales, el agonista del receptor  $DP_1$  de prostaglandina se selecciona entre compuestos de fórmula VI en la que A es H; B es arilo sustituido con lo que B está unido mediante un enlace sencillo; R es  $C(=O)Z$  en la que Z es hidroxilo; U es  $(CH_2)_p$  en la que p es 0; Q es  $-CR^4R^5-W$ , en la que  $R^4$  y  $R^5$  se seleccionan independientemente entre H y alquilo  $C_1-C_6$ ; o  $R^4$  y  $R^5$  pueden formar un cicloalquilo  $C_3-C_6$  con el carbono al que están unidos; W se selecciona entre alquilo  $C_1-C_6$ , cicloalquilo  $C_3-C_6$ , alquilo  $C_1-C_6$ , cicloalquilo  $C_3-C_6$ , arilo y sustituido fenilo; y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

En las realizaciones particularmente preferidas, el agonista del receptor  $DP_1$  de prostaglandina se selecciona entre el grupo constituido por:



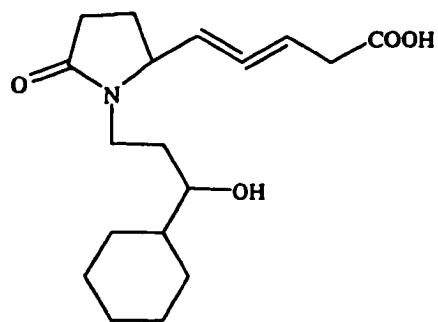
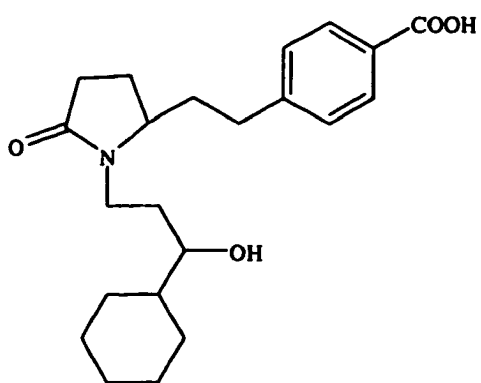
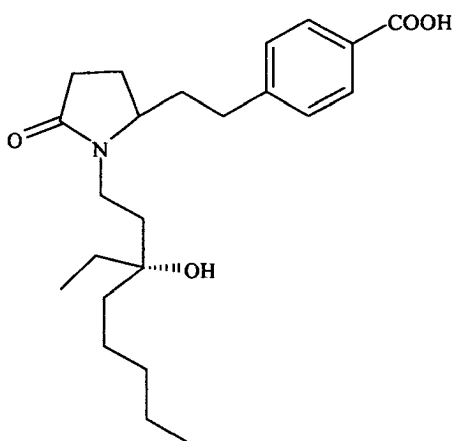
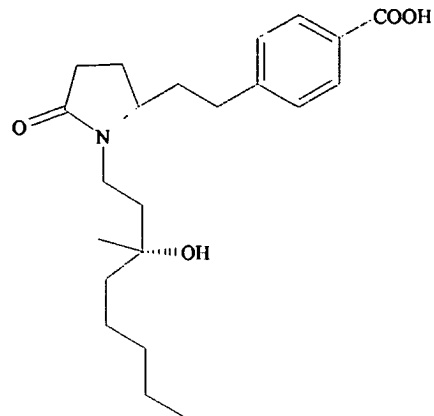
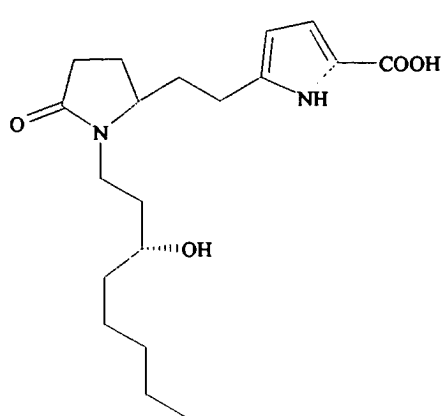
ES 2 336 933 T3

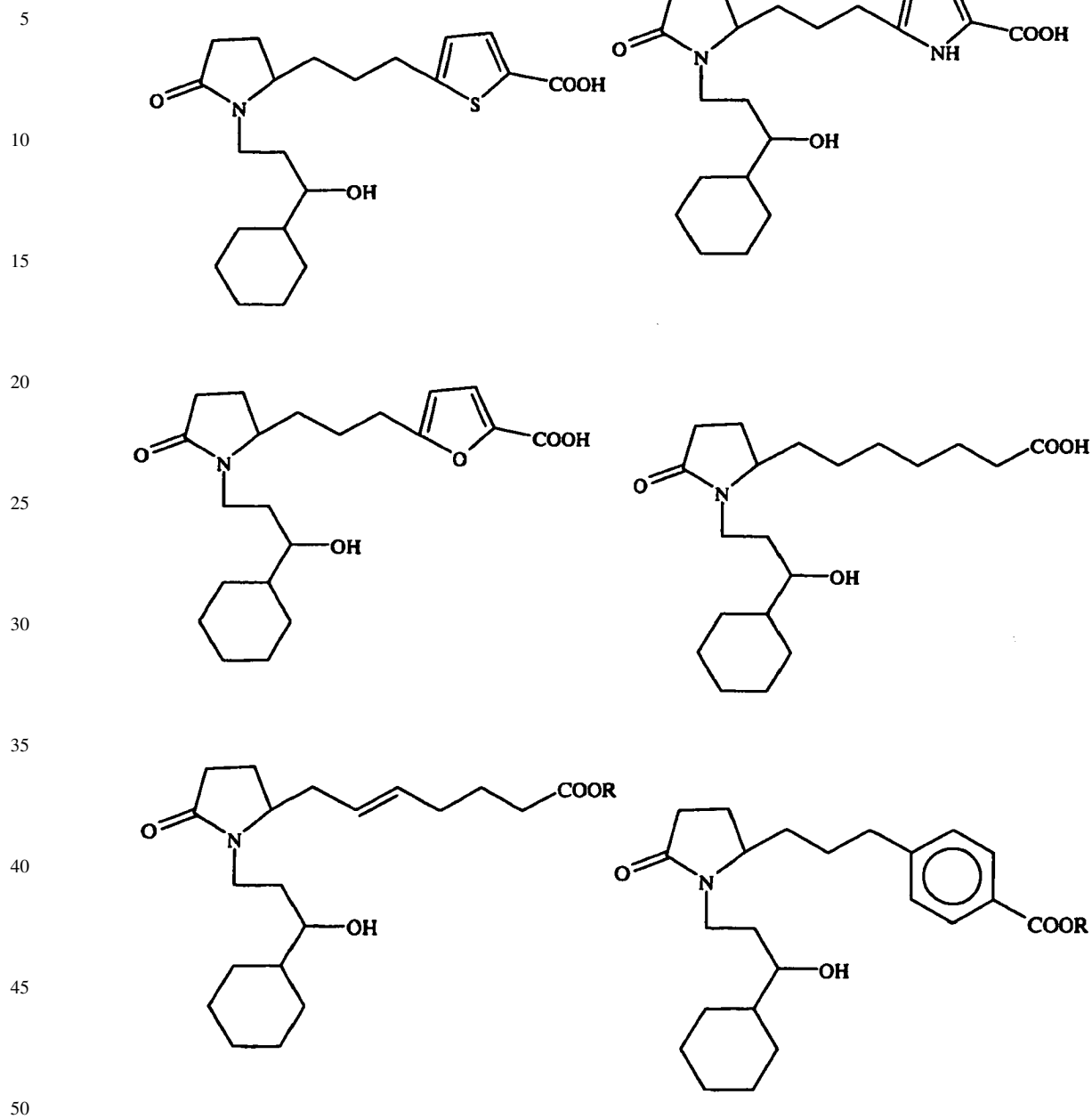
5  
10  
15  
20  
25  
30  
35  
40  
45  
50  
55  
60  
65



ES 2 336 933 T3

5  
10  
15  
20  
25  
30  
35  
40  
45  
50  
55  
60  
65





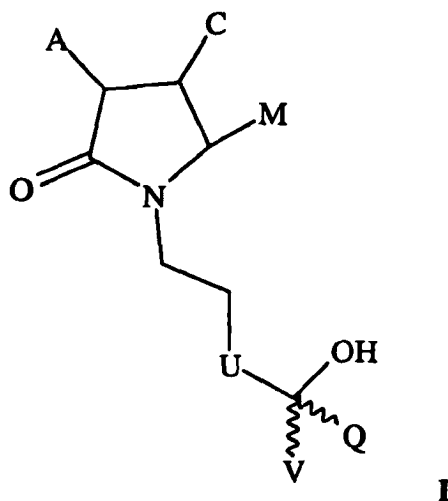
55 Otras características y ventajas de la invención resultarán evidentes a partir de la siguiente descripción detallada.

60

65

## ES 2 336 933 T3

En la presente solicitud se describe una serie de derivados de pirrolidin-2-ona que son útiles para diversos trastornos, y en particular serán útiles en el tratamiento de enfermedades o trastornos asociados con prostaglandinas, tales como inhibición de la contracción de músculo liso inducida por prostanoides. Los compuestos de la invención generalmente tienen la estructura representada en la Fórmula I:



en la que cada uno de A y C es independientemente hidrógeno,

M se selecciona entre el grupo constituido por alquilo  $C_1-C_7$  opcionalmente sustituido, alqueniilo  $C_1-C_6$ , alquinilo  $C_1-C_6$  y  $-(CH_2)_q-B$  en la que B se selecciona entre el grupo que comprende arilo carbocíclico opcionalmente sustituido, heteroalíclico opcionalmente sustituido que tiene de 3 a 8 átomos en el anillo y al menos un átomo de N, O o S en el anillo y un grupo heteroaromático que tiene un solo anillo con 5 ó 6 átomos en el anillo y al menos un átomo de N, O o S en el anillo; en la que q en  $-(CH_2)_q-B$  se selecciona entre 1, 2, 3, y 4;

U es  $(CH_2)_p$  en la que p se selecciona entre 0, 1 y 2;

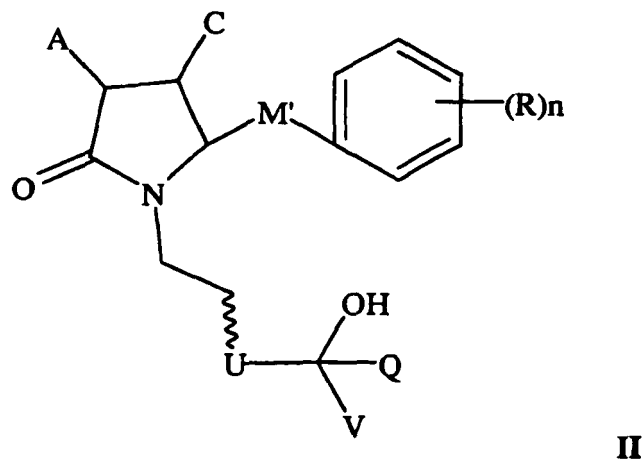
cada uno de V y Q se selecciona independientemente entre el grupo que comprende o que está constituido por hidrógeno, alquilo opcionalmente sustituido que preferiblemente tiene de 1 a aproximadamente 12 átomos de carbono, alqueniilo opcionalmente sustituido que preferiblemente tiene de 2 a aproximadamente 12 átomos de carbono, alquinilo opcionalmente sustituido que preferiblemente tiene de 2 a aproximadamente 12 átomos de carbono, heteroalquilo  $C_1-C_6$  opcionalmente sustituido, cicloalquil  $C_3-C_6$  alquilo  $C_1-C_6$  opcionalmente sustituido, heterocicloalquil  $C_1-C_6$  alquilo  $C_1-C_6$  opcionalmente sustituido, aril alquilo  $C_1-C_6$  opcionalmente sustituido y  $-CR^1R^2-W$ , en la que  $R^1$  y  $R^2$  se seleccionan independientemente entre H y alquilo  $C_1-C_6$  opcionalmente sustituido, preferiblemente H; o  $R^1$  y  $R^2$  pueden formar un cicloalquilo  $C_3-C_6$  opcionalmente sustituido con el carbono al que están unidos, preferiblemente un cicloalquilo  $C_3$ ,  $C_4$  o  $C_5$  opcionalmente sustituido;

W se selecciona entre el grupo que comprende o está constituido por hidrógeno, alquilo  $C_1-C_6$  opcionalmente sustituido, cicloalquilo  $C_3-C_6$  opcionalmente sustituido, cicloalquil  $C_3-C_6$  alquilo  $C_1-C_6$  opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido y aril alquilo  $C_1-C_6$  opcionalmente sustituido; siendo al menos uno de V y Q distinto de hidrógeno; y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

En la Fórmula I, preferiblemente el sustituyente B es un arilo carbocíclico sustituido, heteroalíclico, o grupo heteroaromático, por ejemplo tal como un grupo de anillo sustituido con un carboxilato (por ejemplo,  $-COOR$  donde R es hidrógeno o alquilo  $C_1-C_6$ ), amida (por ejemplo  $-CONHR$  donde R es H o alquilo  $C_1-C_6$ ).

## ES 2 336 933 T3

Los compuestos de Fórmula I preferidos incluyen aquellos compuestos donde el sustituyente A es hidrógeno y/o el sustituyente B es un grupo tiofeno opcionalmente sustituido, pirrol opcionalmente sustituido, furano opcionalmente sustituido o arilo carbocíclico opcionalmente sustituido, particularmente fenilo opcionalmente sustituido, tal como los compuestos de la siguiente Fórmula II:

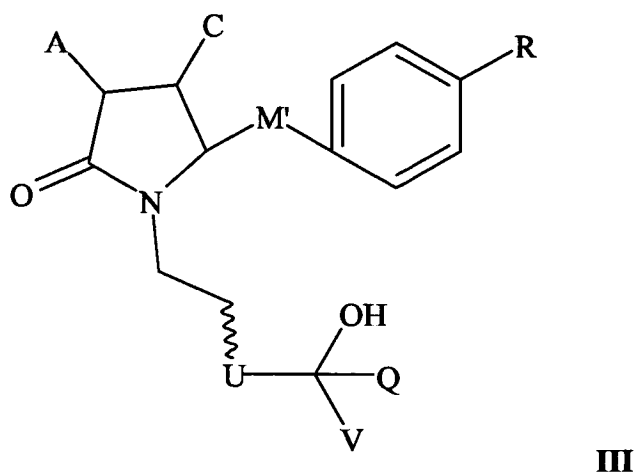


25 en la que en la Fórmula II, A, C, U, V y Q son iguales a los definidos para la fórmula I anterior;

30 M' se selecciona entre el grupo constituido por alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>7</sub> opcionalmente sustituido, alqueno C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, y alquínilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>;

35 R es C(=O)Z donde Z se selecciona entre el grupo que comprende o está constituido por hidrógeno, hidroxilo, alcoxi tal como -O-alquilo, preferiblemente -O-alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> (es decir, para proporcionar el éster C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, incluyendo metil, etil, propil o butil ésteres) y alquilo opcionalmente sustituido, preferiblemente alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>; o R es amino o alquilamina tal como NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup> donde R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> son independientemente hidrógeno o alquilo opcionalmente sustituido, preferiblemente alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> que tiene de 1 a 6; n es un número entero seleccionado entre 0, 1, 2, 3, 4 (donde las posiciones del anillo de fenilo disponibles están todas sustituidas con hidrógeno) y 5, y preferiblemente n se selecciona entre 0, 1 y 2; y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

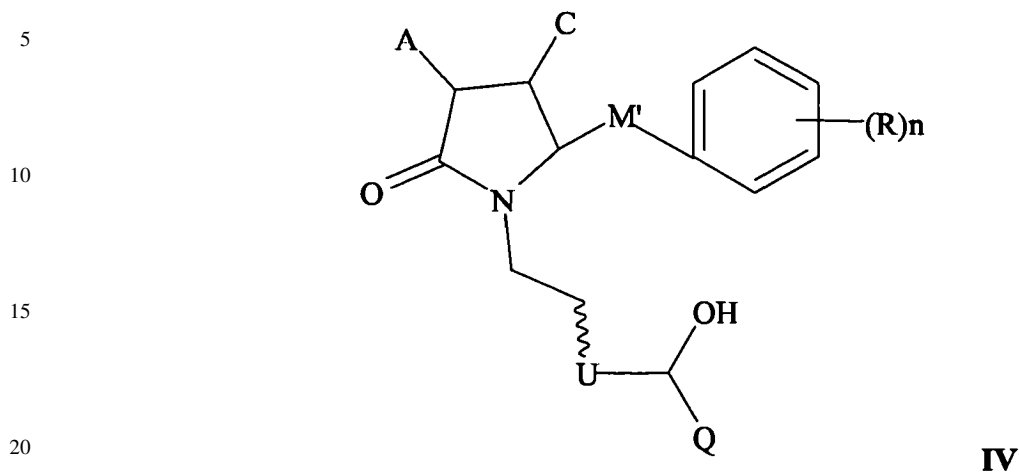
40 Los compuestos de Fórmulas I y II anteriores preferidos incluyen aquellos que tienen un resto fenilo sustituido en posición para como un componente del sustituyente del nitrógeno del anillo de la pirrolidinona, tal como compuestos de la siguiente Fórmula III:



65 en la que en la Fórmula III A, C, U, Q y V son iguales a los definidos para la Fórmula I; M' y R son iguales a los definidos para la Fórmula II, y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

ES 2 336 933 T3

También se prefieren compuestos de las fórmulas anteriores en los que uno de los sustituyentes Q y V es hidrógeno y el otro es un grupo distinto de hidrógeno, tal como los compuestos de la siguiente Fórmula IV:



en la que en la Fórmula IV:

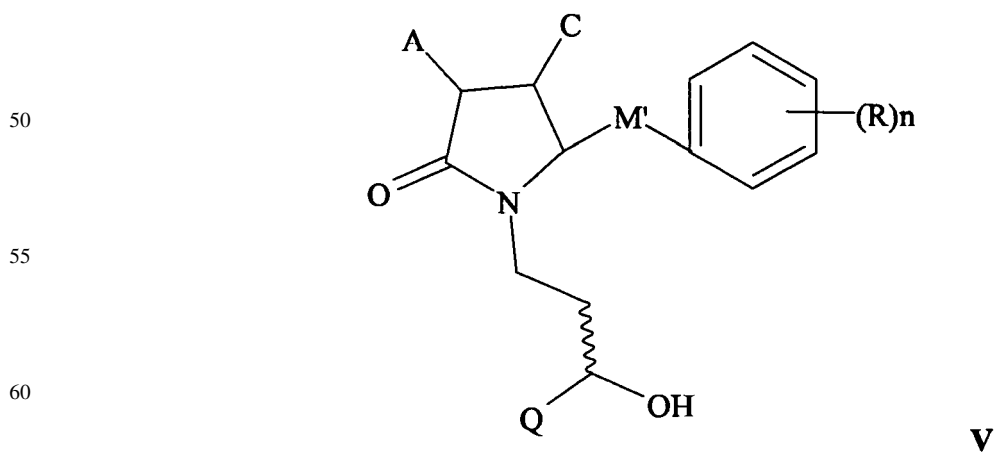
25 U es igual al definido en la Fórmula I;

M', R y n son iguales a los definidos en la Fórmula II; y

30 Q se selecciona entre el grupo que comprende o está constituido por alquilo opcionalmente sustituido que preferiblemente tiene de 1 a aproximadamente 12 átomos de carbono, alqueno opcionalmente sustituido que preferiblemente tiene de 2 a aproximadamente 12 átomos de carbono, alquino opcionalmente sustituido que preferiblemente tiene de 2 a aproximadamente 12 átomos de carbono, heteroalquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, cicloalquil C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, heterocicloalquil C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, arilo opcionalmente sustituido, alquilo y -CR<sub>1</sub>R<sub>2</sub>-W, en la que R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> se seleccionan independientemente entre H y alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido, preferiblemente H o metilo; o R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> pueden formar un cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido con el carbono al que están unidos, preferiblemente un cicloalquilo C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub> o C<sub>5</sub> opcionalmente sustituido;

35 W se selecciona entre el grupo que comprende o está constituido por hidrógeno, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido, cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido, cicloalquil C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido y arilalquilo opcionalmente sustituido; y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

45 También se prefieren los compuestos de las fórmulas anteriores donde U está ausente (p = 0), para obtener de esta manera compuestos de la siguiente Fórmula V:



65 en la que en la Fórmula V:

M', R y n son iguales a los definidos en la Fórmula II; y

## ES 2 336 933 T3

Q se selecciona entre el grupo constituido por alquilo (lineal o ramificado) opcionalmente sustituido que preferiblemente tiene de 1 a aproximadamente 12 átomos de carbono, más preferiblemente de 1 a 9 átomos de carbono (por ejemplo, un resto pentilo, hexilo, heptilo o nonilo), alqueno opcionalmente sustituido que preferiblemente tiene de 2 a aproximadamente 12 átomos de carbono, alquino opcionalmente sustituido que preferiblemente tiene de 2 a aproximadamente 12 átomos de carbono, heteroalquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, cicloalquil C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, heterocicloalquil C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> alquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, arilalquilo opcionalmente sustituido, por ejemplo, un bencilo o un fenetilo opcionalmente sustituidos y -CR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>-W, en la que R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> se seleccionan independientemente entre H y alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido, preferiblemente H o metilo; o R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> pueden formar un cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido con el carbono al que están unidos, preferiblemente un cicloalquilo C<sub>3</sub> o C<sub>4</sub> opcionalmente sustituido;

W se selecciona entre el grupo constituido por hidrógeno, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido, cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido, cicloalquil C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido y aril alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido; y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Un grupo de compuestos preferidos de la invención incluye compuestos de fórmula V en la que R es C(=O)OH y es un sustituyente "para"; n es 1; y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Q se selecciona entre el grupo que comprende o está constituido por alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido, alqueno C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido y -CR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>-W, en la que R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> se seleccionan independientemente entre H y alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido, preferiblemente H o metilo; o R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> pueden formar un cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido con el carbono al que están unidos, preferiblemente un cicloalquilo C<sub>3</sub> o C<sub>4</sub> opcionalmente sustituido;

W se selecciona entre el grupo que comprende o está constituido por hidrógeno, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido, cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido, cicloalquil C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido, cicloalquil C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido y aril alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido; y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Otro grupo de los compuestos de la invención más preferido incluye compuestos de fórmula V, en la que R es C(=O) OH está en una posición "para" con lo que n es 1;

Q es -CR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>-W, en la que R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> se seleccionan independientemente entre H y alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido, preferiblemente H o metilo; o R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> pueden formar un cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido con el carbono al que están unidos, preferiblemente un cicloalquilo C<sub>3</sub> o C<sub>4</sub> opcionalmente sustituido;

W se selecciona entre el grupo que comprende o está constituido por hidrógeno, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido, cicloalquil C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido y arilo opcionalmente sustituido; y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

De acuerdo con una realización, los compuestos de la invención presentan actividad de unión en un ensayo de unión al receptor DP<sub>1</sub> de prostaglandina convencional. Los formatos de ensayo ejemplares se muestran en el Ejemplo 5 a continuación.

De acuerdo con una realización, los compuestos de la presente invención pueden presentar también una unión selectiva a otros receptores de prostaglandinas.

Como se ha analizado anteriormente, los compuestos sustituidos de 5-pirrolidinona 1,2-sustituida de la invención son útiles para el tratamiento de enfermedades y trastornos asociados con la familia de compuestos de prostaglandina. El uso de la invención en general comprende administrar una cantidad eficaz de uno o más de los compuestos de pirrolidinona como se describe en el presente documento a un mamífero en necesidad del mismo.

Los compuestos de pirrolidinona de la invención son particularmente útiles para el tratamiento de un mamífero que padece o es susceptible de padecer (terapia profiláctica) parto prematuro, dismenorrea, asma y otras afecciones relacionadas con broncodilatación, inflamación, hipertensión, coagulación de la sangre indeseada y otras actividades plaquetarias indeseadas, preeclampsia y/o eclampsia, y trastornos relacionados con eosinófilos. Los compuestos basados en pirrolidinona de la invención también son útiles para tratar a un mamífero que padece o que se sospecha que padece infertilidad, particularmente una mujer que padece infertilidad. Los compuestos de pirrolidinona de la invención pueden ser particularmente beneficiosos para el tratamiento de mamíferos hembra que padecen un trastorno ovulatorio. Además, los compuestos de la invención pueden administrarse a mujeres que están bajo tratamientos reproductivos tales como fertilización *in vitro* o procedimientos de implante, por ejemplo, para estimular el desarrollo y maduración folicular. Los compuestos de la invención también son útiles para tratar la disfunción sexual, incluyendo disfunción eréctil.

Los compuestos de la invención preferidos también serán útiles para el tratamiento de la pérdida ósea indeseada (por ejemplo, osteoporosis, particularmente en mujeres) o estimular de otra manera la formación ósea y el tratamiento de otras enfermedades ósea tales como enfermedad de Paget, curación o sustitución de injertos óseos y similares.

## ES 2 336 933 T3

Los compuestos de la invención también son útiles para el tratamiento de un sujeto que padece o es susceptible de padecer disfunción renal, incluyendo un mamífero que padece o es susceptible de padecer insuficiencia renal aguda o crónica.

5 Los compuestos de la invención también son útiles para el tratamiento de un sujeto que padece o es susceptible de padecer un trastorno inmune incluyendo una enfermedad o trastorno por deficiencia inmune, incluyendo dicho trastorno asociado con una infección viral particularmente una infección retroviral tal como una infección por VIH. Se beneficia particularmente de dicha terapia un ser humano que padece o es susceptible de padecer SIDA (Thivierge *et al.* Blood, 1998, 92 (1), 40-45).

10 Los compuestos de la invención serán útiles también para reducir la presión intra-ocular elevada de un sujeto, por ejemplo, mediante la relajación del músculo ciliar aislado pre-contraído.

15 En particular, un mamífero tal como un ser humano que padece o es susceptible de padecer glaucoma u otro trastorno asociado con la presión intra-ocular elevada. Los compuestos de la invención también serán útiles para el tratamiento de un mamífero, particularmente un ser humano, que padece o es susceptible de padecer xeroftalmía.

20 Los compuestos de la invención serán útiles también para estimular el sueño en un sujeto, por ejemplo, para tratar a un mamífero, particularmente un ser humano, que padece o es susceptible de padecer un trastorno del sueño que puede estar asociado con una edad avanzada, tal como un ser humano de 65 años o mayor.

Los compuestos de la invención serán útiles también para tratar a un mamífero que padece o es susceptible de padecer una disfunción sexual, particularmente un hombre que padece disfunción eréctil.

25 Los compuestos de la invención serán útiles también para tratar a un mamífero que padece o es susceptible de padecer una enfermedad o trastorno inflamatorio incluyendo inflamación vascular, dolor inflamatorio e hiperalgesia.

30 Los compuestos de la invención también serán útiles para tratar a un mamífero que padece o es susceptible de padecer úlceras, particularmente úlceras gástricas. Dichas terapias pueden realizarse junto con un paciente tratado con un agente anti-inflamatorio, que puede favorecer las úlceras gástricas.

35 Los compuestos de la invención pueden administrarse también a un mamífero, particularmente un ser humano, que padece o es susceptible de padecer un trastorno cutáneo, particularmente piel seca (ictiosis) o erupciones cutáneas.

40 En un aspecto adicional, la invención proporciona un uso de un compuesto de pirrolidin-2-ona, incluyendo un compuesto seleccionado particularmente entre el grupo constituido por una cualquiera de las Fórmulas I a V para el tratamiento o prevención (incluyendo tratamiento profiláctico) de una enfermedad o afección como se describe en el presente documento, incluyendo parto prematuro, inducción de la ovulación, maduración del cuello del útero, dismenorrea, asma, hipertensión, infertilidad o trastorno de la fertilidad, coagulación de la sangre indeseada, preeclampsia o eclampsia, un trastorno eosinófilo, disfunción sexual incluyendo disfunción eréctil, osteoporosis y otras enfermedades o trastornos óseos destructivos, disfunción renal (aguda y crónica), trastorno o enfermedad por deficiencia inmune, xeroftalmía, trastornos cutáneos tales como ictiosis, presión intra-ocular elevada tal como la asociada con glaucoma, trastornos del sueño, úlceras, enfermedades o trastornos inflamatorios y otras enfermedades y trastornos asociados con la prostaglandina y los receptores de la misma.

45 En otro aspecto más, la invención proporciona un uso de un compuesto de pirrolidin-2-ona, particularmente un compuesto de una cualquiera de las Fórmulas I a V para la preparación de un medicamento para el tratamiento o prevención (incluyendo tratamiento profiláctico) de una enfermedad o afección como se describe en el presente documento, incluyendo parto prematuro, inducción de la ovulación, maduración del cuello del útero, dismenorrea, asma, hipertensión, infertilidad o trastorno de la fertilidad, coagulación de la sangre indeseada, preeclampsia o eclampsia, un trastorno eosinófilo, disfunción sexual, incluyendo disfunción eréctil, osteoporosis y otras enfermedades o trastornos óseos destructivos, disfunción renal (aguda y crónica), trastorno o enfermedad por deficiencia inmune, xeroftalmía, trastornos cutáneos tales como ictiosis, presión intra-ocular elevada tal como la asociada con glaucoma, trastornos del sueño, úlceras, enfermedades o trastornos inflamatorios y otras enfermedades y trastornos asociados con la prostaglandina y los receptores de la misma.

50 Los procedimientos incluyen identificar y/o seleccionar un sujeto (por ejemplo, un mamífero, particularmente un ser humano) que es susceptible de padecer o que padece una de las afecciones descritas en el presente documento, y posteriormente administrar al sujeto identificado y seleccionado uno o más compuestos de la invención, particularmente un sujeto que se identifica y selecciona como susceptible de padecer o que padece infertilidad, particularmente trastornos ovulatorios, parto prematuro, asma, hipertensión, disfunción sexual, incluyendo disfunción eréctil, osteoporosis y otras enfermedades o trastornos óseos destructivos, inflamación, disfunción renal (aguda y crónica), trastorno o enfermedad por deficiencia inmune, xeroftalmía, trastornos cutáneos tales como ictiosis, presión intra-ocular elevada tal como la asociada con glaucoma, trastornos del sueño, úlceras, o otras enfermedades y trastornos asociados con prostaglandina.

## ES 2 336 933 T3

La invención proporciona también composiciones farmacéuticas que comprenden uno o más de los compuestos de pirrolidin-2-ona de la invención junto con un vehículo adecuado para el compuesto o compuestos.

5 En un aspecto adicional, se proporciona el uso y composiciones farmacéuticas que comprende administrar un agonista del receptor DP<sub>1</sub> de prostaglandina para el tratamiento de infertilidad, incluyendo trastorno ovulatorios. Más específicamente, dichos usos y composiciones farmacéuticas son para inducir la ovulación, incluyendo el desencadenamiento de la ovulación: más específicamente, para desencadenar la ovulación en un paciente sometido a un tratamiento para inducir la ovulación o a una terapia TRA (Tecnología de Reproducción Asistida).

10 En otro aspecto preferido más, la invención proporciona usos y composiciones farmacéuticas que comprenden administrar un agonista del receptor de prostaglandina DP<sub>1</sub> para el tratamiento de trastornos de infertilidad en los que el agonista de DP<sub>1</sub> se selecciona entre compuestos de la siguiente Fórmula VI:

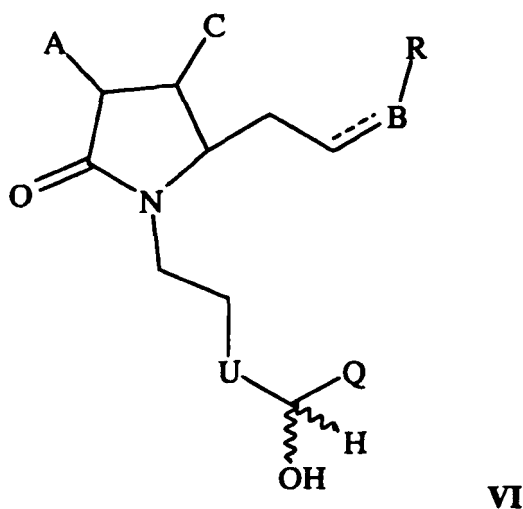
15

20

25

30

35



40

en la que cada uno de A y C es independientemente H y preferiblemente cada uno es H;

45

B se selecciona entre el grupo que comprende o está constituido por alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido, preferiblemente alquilo C<sub>3</sub> o C<sub>4</sub>, aril alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido, aril heteroalquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido, preferiblemente aril alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, heteroaril alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido, cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido y heterocicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido, con la condición de que cuando B es arilo opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido, cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido y heterocicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido, el enlace no definido que une B es un enlace sencillo;

50

La línea de puntos indica un doble enlace opcional;

55

R es C(=O)Z en la que Z se selecciona entre el grupo que comprende o está constituido por hidrógeno, hidroxilo, alcoxi tal como -O-alquilo preferiblemente -O-alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> (es decir, para proporcionar el éster C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, incluyendo metil, etil, propil o butil ésteres), alquilo opcionalmente sustituido, preferiblemente alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> y arilo opcionalmente sustituido; o Z se selecciona entre el grupo que comprende o está constituido por amino o alquilamina tal como -NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup> en la que R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> se seleccionan independientemente entre hidrógeno y alquilo opcionalmente sustituido, preferiblemente alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, -NHSO<sub>2</sub>R<sup>3</sup> y -NHC(O)R<sup>3</sup> en la que R<sup>3</sup> se selecciona entre alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido y arilo opcionalmente sustituido; o R es heteroarilo opcionalmente sustituido, preferiblemente incluyendo al menos un átomo de N, incluyendo tetrazolilo;

60

U es (CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub> en la que p es un número entero seleccionado entre 0, 1 y 2, preferiblemente 0 ó 1;

65

Q es -CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-W, en la que R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> se seleccionan independientemente entre H, halógeno y alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido; o R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> pueden formar un cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido con el carbono al que están unidos, preferiblemente un cicloalquilo C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub> o C<sub>5</sub> opcionalmente sustituido;

## ES 2 336 933 T3

W se selecciona entre el grupo que comprende o está constituido por hidrógeno, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido, cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido, heterocicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido, cicloalquil C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido, heterocicloalquil C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido, aril alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido y heteroaril alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido; y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Los agonistas de DP<sub>1</sub> preferidos se seleccionan en un ensayo de unión de DP<sub>1</sub>. Un ejemplo de dicho ensayo se define en el Ejemplo 5 a continuación.

Los derivados de pirrolidin-2-ona descritos en el presente documento pueden contener diversos grupos sustituyentes. Los grupos sustituyentes alquilo adecuados de los compuestos de la invención (que incluyen compuestos de Fórmulas I, II, III, IV y V, y variantes de los mismos descritas en el presente documento) típicamente tienen de 1 a aproximadamente 12 átomos de carbono, más preferiblemente de 1 a aproximadamente 8 átomos de carbono, aún más preferiblemente 1, 2, 3, 4, 5 ó 6 átomos de carbono. Como se usa en el presente documento, el término "alquilo," a menos que se modifique de otra manera, se refiere a grupos tanto cíclicos como no cíclicos, así como a grupos ramificados y lineales, aunque por supuesto los grupos cíclicos comprenderán un anillo de al menos tres miembros de carbono. Los grupos de compuestos alqueno y alquino preferidos de la invención tienen uno o más enlaces insaturados y típicamente de 2 a aproximadamente 12 átomos de carbono, más preferiblemente de 2 a aproximadamente 8 átomos de carbono, aún más preferiblemente 2, 3, 4, 5 ó 6 átomos de carbono. Las expresiones alqueno y alquino como se usan en el presente documento se refieren tanto a grupos cíclicos como no cíclicos, aunque los grupos no cíclicos lineales o ramificados son generalmente los más preferidos.

Los grupos alcoxi preferidos de los compuestos de la invención incluyen grupos que tienen uno o más enlaces con oxígeno y de 1 a aproximadamente 8 átomos de carbono, y aún más preferiblemente 1, 2, 3, 4, 5 ó 6 átomos de carbono. Los grupos alquilamino preferidos incluyen aquellos grupos que tienen uno o más grupos amina primaria, secundaria y/o terciaria, y de 1 a aproximadamente 8 átomos de carbono, aún más preferiblemente 1, 2, 3, 4, 5 ó 6 átomos de carbono.

Los grupos heterocíclicos adecuados de los compuestos de la invención particularmente como el sustituyente B de Fórmula I, contienen uno o más átomos de N, O o S e incluyen, por ejemplo, grupos tetrahydrofuranoílo, tienilo, piperidinilo, morfolino y pirrolidinilo.

Los grupos heteroaromáticos adecuados de los compuestos de la invención particularmente como el sustituyente B de Fórmula I son restos de un solo anillo de 5 miembros o de 6 miembros que tienen al menos un átomo de N, O o S en el anillo. Los ejemplos particulares de grupos heteroaromáticos incluyen piridilo, pirrolilo, furilo (furaniilo), 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, quinazolinilo, ftalazínilo, quinoxalínilo, cinolinilo, naftiridinilo, pirido[3,4-b]piridilo, pirido[3,2-b]piridilo, pirido[4,3-b]piridilo, quinolilo, isoquinolilo, tetrazolilo, 5,6,7,8-tetrahydroquinolilo, 5,6,7,8-tetrahydroisoquinolilo, purinilo, pteridinilo, carbazolilo, xantenilo o benzoquinolilo opcionalmente sustituidos. Tienilo, furanilo opcionalmente sustituido, pirazinilo opcionalmente sustituido y piridilo opcionalmente sustituidos son los sustituyentes heteroaromáticos B particularmente preferidos.

Los grupos arilo carbocíclico adecuados de los compuestos de la invención incluyen compuestos de un solo y de múltiples anillos, incluyendo compuestos de múltiples anillos que contienen grupos arilo separados y/o condensados. Los grupos arilo carbocíclico típicos de los compuestos de la invención contienen de 1 a 3 anillos separados o condensados y de 6 a aproximadamente 18 átomos de carbono en el anillo. Los grupos arilo carbocíclico específicamente preferidos incluyen fenilo; naftilo incluyendo fenilo, 1-naftilo y 2-naftilo; bifenilo; fenantrilo; antracilo; y acenafilo. Los grupos carbocíclicos sustituidos son particularmente adecuados, incluyendo fenilo sustituido, tal como fenilo 2-sustituido, fenilo 3-sustituido, fenilo 4-sustituido, fenilo 2,3-sustituido, fenilo 2,4-sustituido y fenilo 2,5-sustituido; y naftilo sustituido, incluyendo naftilo sustituido en las posiciones 5, 6 y/o 7.

Los grupos aralquilo adecuados de los compuestos de la invención incluyen compuestos de un solo y de múltiples anillos, incluyendo compuestos de múltiples anillos que contienen grupos arilo carbocíclico separados y/o condensados. Los grupos aralquilo típicos contienen de 1 a 3 anillos separados o condensados y de 6 a aproximadamente 18 átomos de carbono en el anillo. Los grupos aralquilo preferidos incluyen bencilo y naftimetilo (-CH<sub>2</sub>-naftilo), y otros grupos aralquilo carbocíclicos, como se ha analizado anteriormente.

Como se ha analizado anteriormente, varios de los sustituyentes de las fórmulas anteriores, tales como R, R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, B, V, Q, y Z pueden estar opcionalmente sustituidos. Un grupo R, R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, B, V, Q, y Z "sustituido" u otro sustituyente puede estar sustituido por algo distinto de hidrógeno en una o más de las posiciones disponibles, típicamente en 1 a 3 ó 4 posiciones, por uno o más grupos adecuados tales como los descritos en el presente documento. Los grupos adecuados que pueden estar presentes en un grupo R, R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, B, V, Q, y Z "sustituido" u otro sustituyente incluyen, por ejemplo, halógeno tal como flúor, cloro, bromo y yodo; ciano; hidroxilo; nitro; azido; alcanóilo tal como un grupo alcanóilo C<sub>1-6</sub> tal como acilo y similares; carboxamido; grupos alquilo incluyendo aquellos grupos que tienen de 1 a aproximadamente 12 átomos de carbono, o 1, 2, 3, 4, 5 ó 6 átomos de carbono; grupos

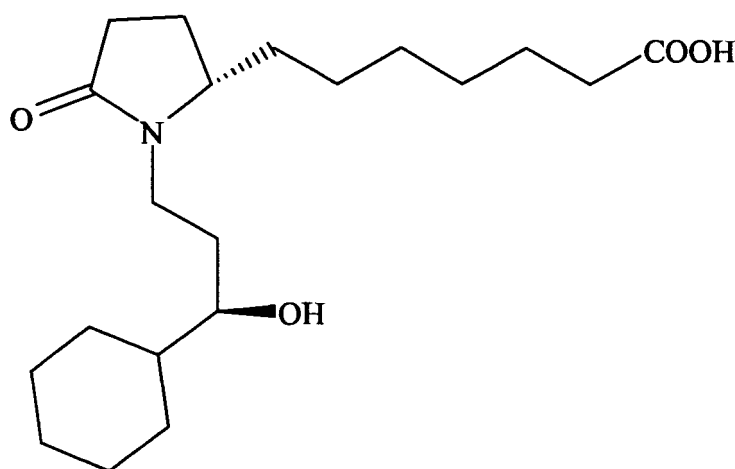
alqueno y alquino incluyendo grupos que tienen una o más uniones insaturadas y de 2 a aproximadamente 12 carbonos, o 2, 3, 4, 5 ó 6 átomos de carbono; grupos alcoxi incluyendo aquellos que tienen una o más uniones oxígeno y de 1 a aproximadamente 12 átomos de carbono, o 1, 2, 3, 4, 5 ó 6 átomos de carbono; arilo tal como fenilo; grupos alquilamino tales como grupos que tienen uno o más átomos de N y de 1 a aproximadamente 12 átomos de carbono, o 1, 2, 3, 4, 5 ó 6 átomos de carbono; arilo carbocíclico que tiene 6 o más carbonos; alquilo que tiene de 1 a 3 anillos separados o condensados y de 6 a aproximadamente 18 átomos de carbono en el anillo, siendo bencilo un grupo preferido; o aralcoxi que tiene de 1 a 3 anillos separados o condensados y de 6 a aproximadamente 18 átomos de carbono en el anillo, tal como O-bencilo. También están comprendidas dentro del término opcionalmente sustituido las situaciones en las que en una posición de un resto R, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, B, V, Q, Z dos sustituyentes alquilo experimentan el cierre del anillo proporcionando un resto cicloalquilo, por ejemplo un ciclopropilo.

Una realización particularmente preferida de la invención es el grupo de derivados de pirrolidina de acuerdo con la fórmula V en la que R es -C(O)OH estando en una posición "para" con lo que n es 1.

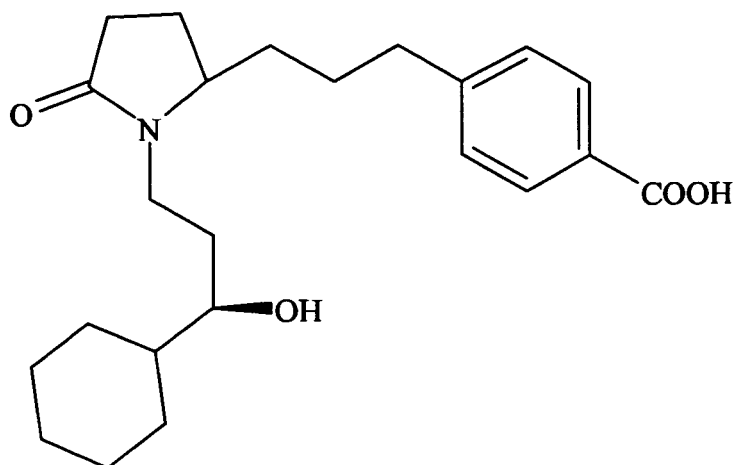
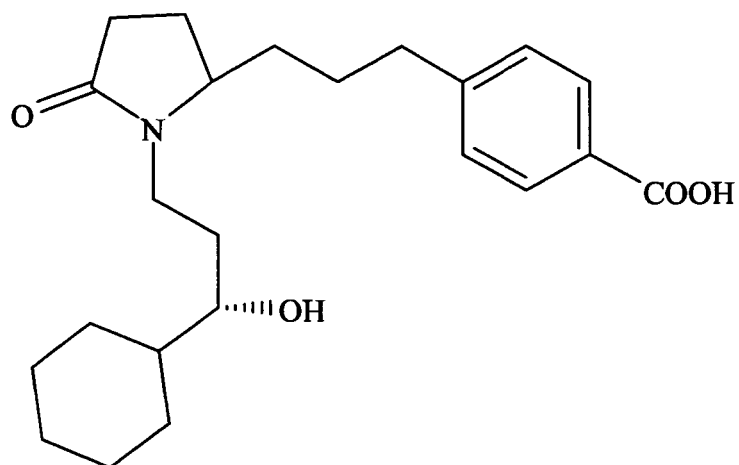
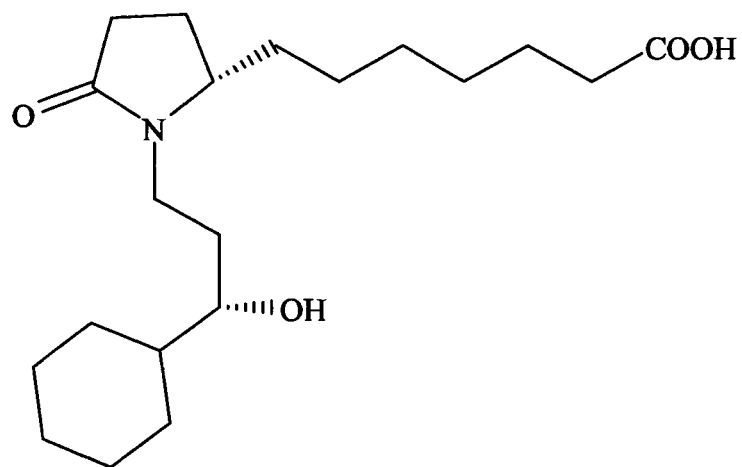
Q se selecciona entre el grupo que comprende o está constituido por alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido, preferiblemente butilo, pentilo, hexilo, metil butilo, metil propilo, di-metil propilo, di-metil pentilo o trifluoropropilo, alqueno C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido, preferiblemente buteno, alquino C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido y -CR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>-W, en la que R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> se seleccionan independientemente entre H y alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido, preferiblemente H o metilo; o R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> pueden formar un cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido con el carbono al que están unidos, preferiblemente un cicloalquilo C<sub>3</sub> o C<sub>4</sub> opcionalmente sustituido, preferiblemente ciclopropilo o ciclobutilo; W se selecciona entre el grupo que comprende o está constituido por hidrógeno, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido, preferiblemente propilo, butilo, pentilo, metil-1-etilo, metil propilo, terc-butilo o tri-fluoro etilo, cicloalquil C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido, preferiblemente, metil ciclopropilo, etil ciclopropilo, cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido, preferiblemente ciclopropilo, ciclopentilo o ciclohexilo, arilo opcionalmente sustituido, preferiblemente fenilo opcionalmente sustituido incluyendo fenilo, metil fenilo, halógeno fenilo y cloro fenilo y aril alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido, preferiblemente etil fenilo; y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Otro grupo más preferido de los compuestos de la invención incluye compuestos de fórmula V en la que R es -C(O)OH estando en una posición "para" con lo que n es 1; Q es -CR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>-W, en la que R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> se seleccionan independientemente entre H y alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido, preferiblemente H o metilo; o R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> pueden formar un cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido con el carbono al que están unidos, preferiblemente un cicloalquilo C<sub>3</sub> o C<sub>4</sub> opcionalmente sustituido, preferiblemente ciclopropilo o ciclobutilo; W se selecciona entre el grupo que comprende o está constituido por hidrógeno, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido, preferiblemente propilo, butilo, pentilo, cicloalquil C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido, preferiblemente metil ciclopropilo o etil ciclopropilo y arilo opcionalmente sustituidos, preferiblemente fenilo opcionalmente sustituido incluyendo fenilo y metil fenilo; y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Las pirrolidinonas de la invención específicamente preferidas incluyen los siguientes compuestos representados y sales farmacéuticamente aceptables de estos compuestos:



5  
10  
15  
20  
25  
30  
35  
40  
45  
50  
55  
60  
65



# ES 2 336 933 T3

Además de los compuestos ejemplares anteriores, otros agonistas de DP<sub>1</sub> útiles de la invención incluyen, aunque sin limitación

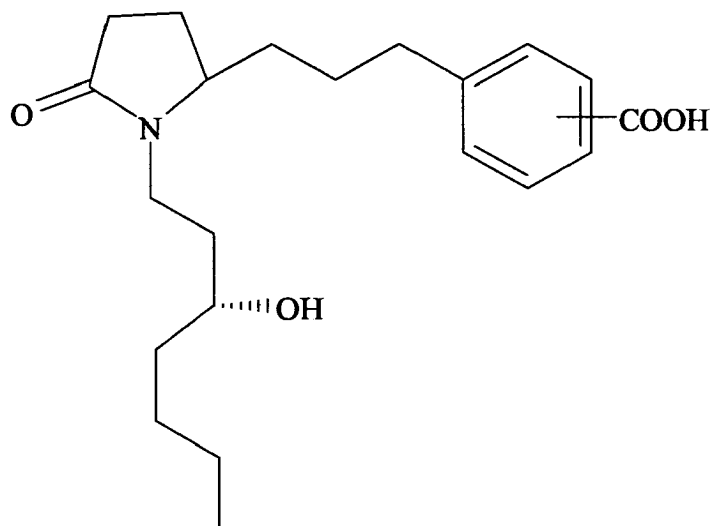
5

10

15

20

25



30

35

40

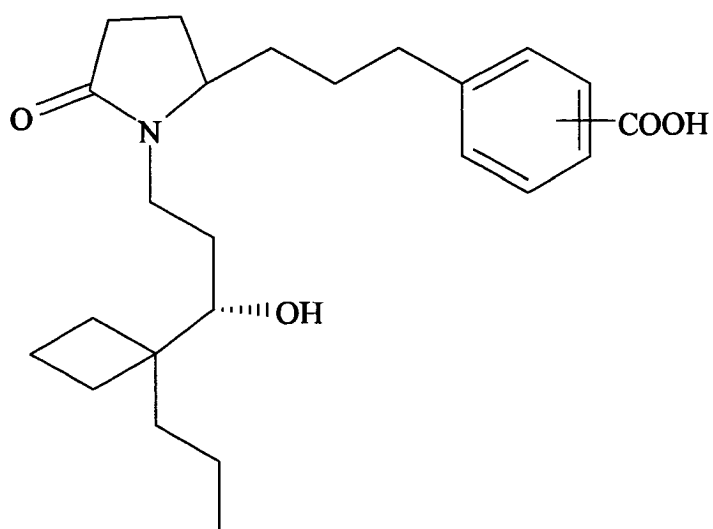
45

50

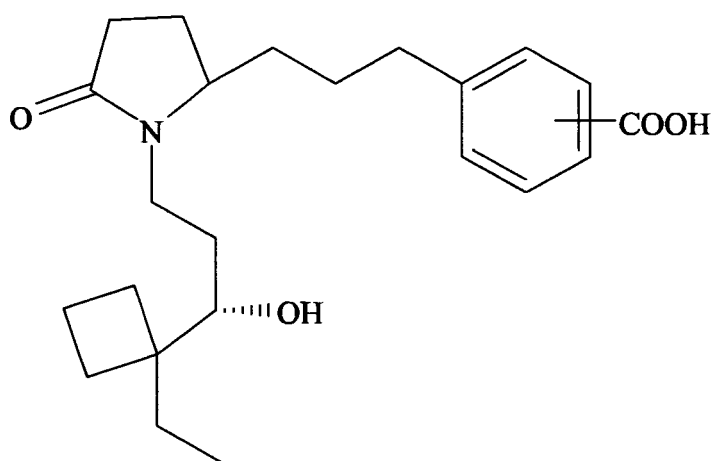
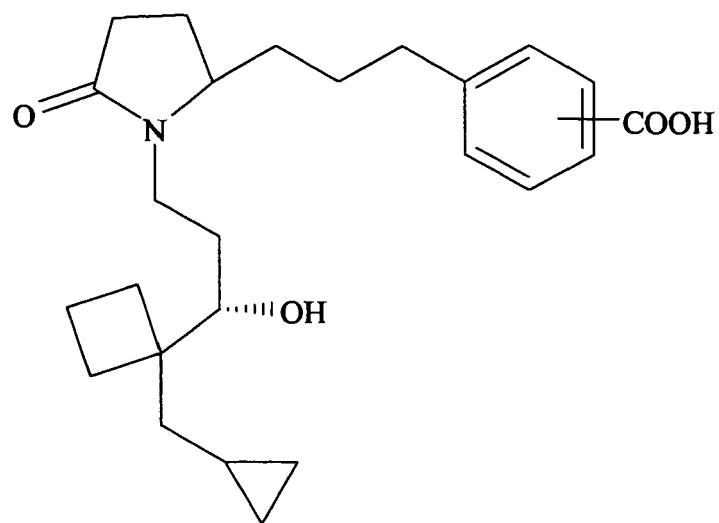
55

60

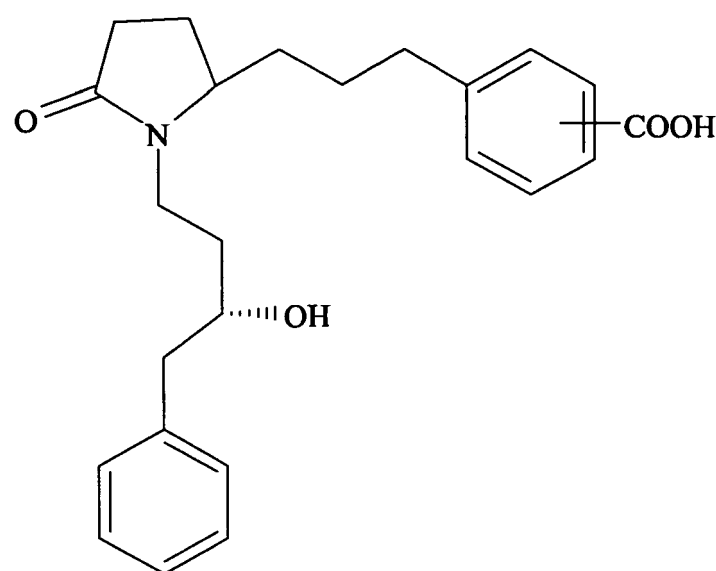
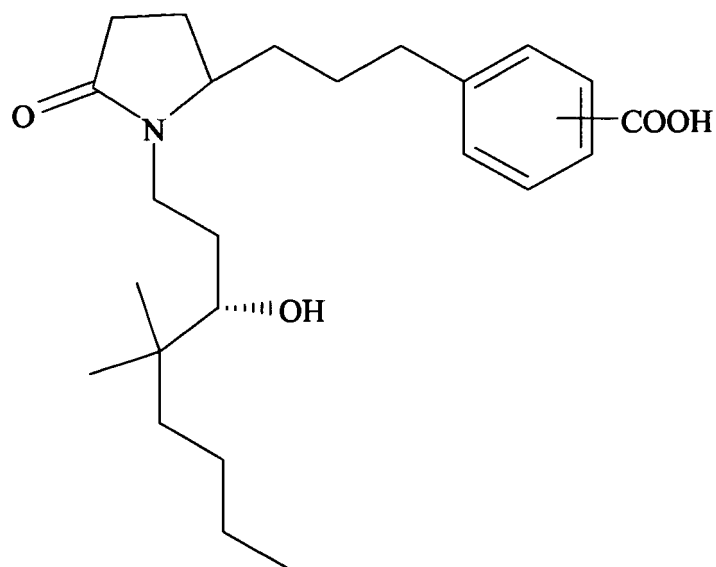
65



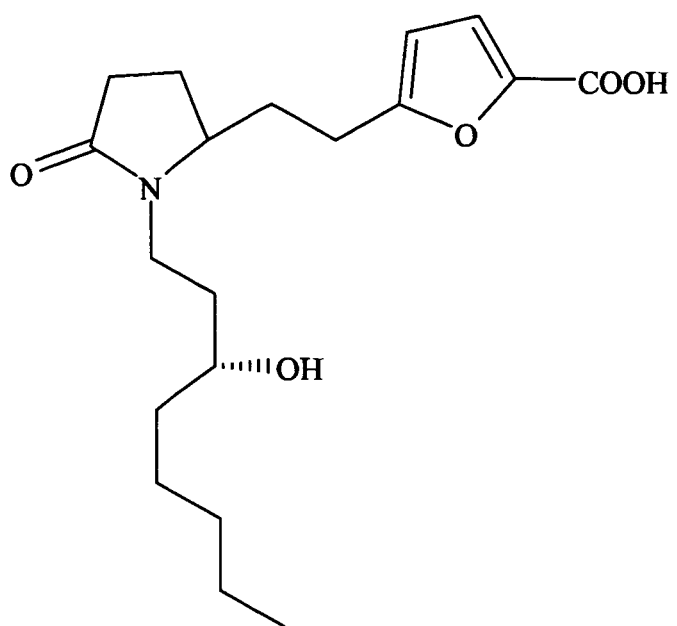
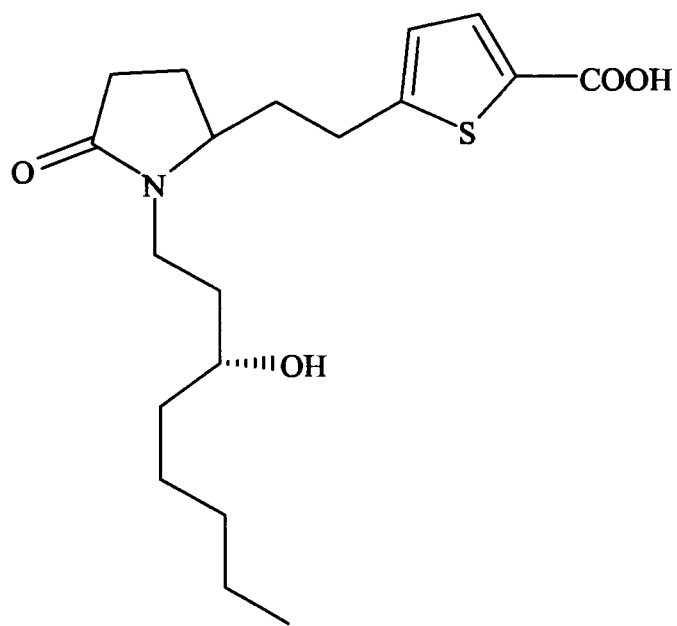
5  
10  
15  
20  
25  
30  
35  
40  
45  
50  
55  
60  
65



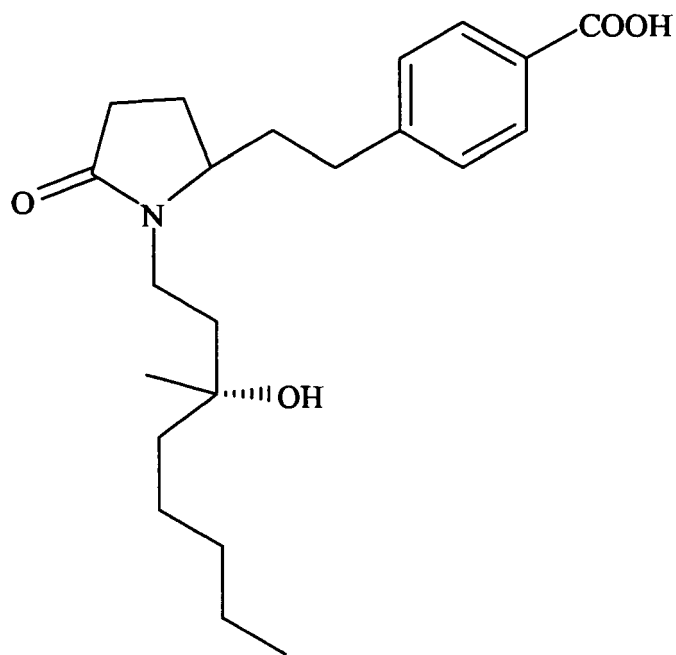
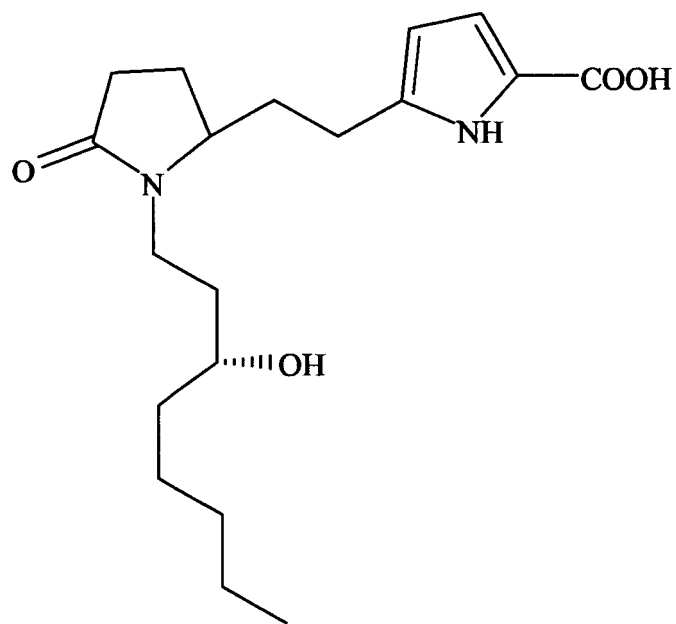
5  
10  
15  
20  
25  
30  
35  
40  
45  
50  
55  
60  
65

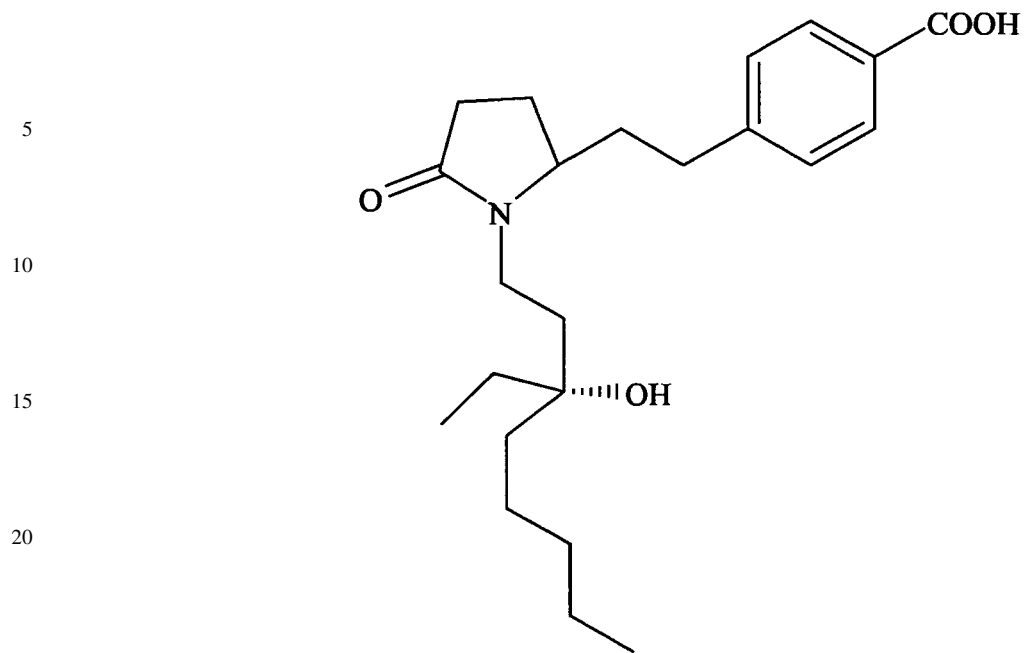


5  
10  
15  
20  
25  
30  
35  
40  
45  
50  
55  
60  
65

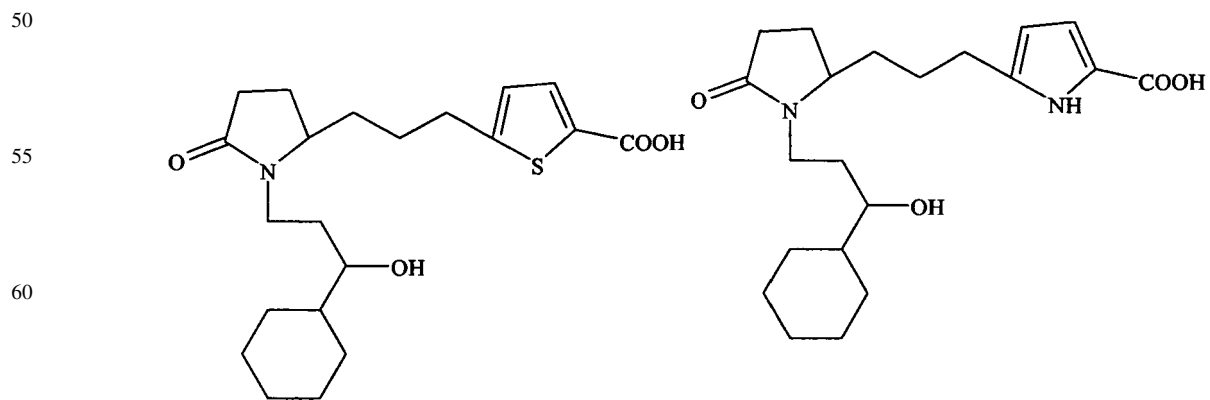
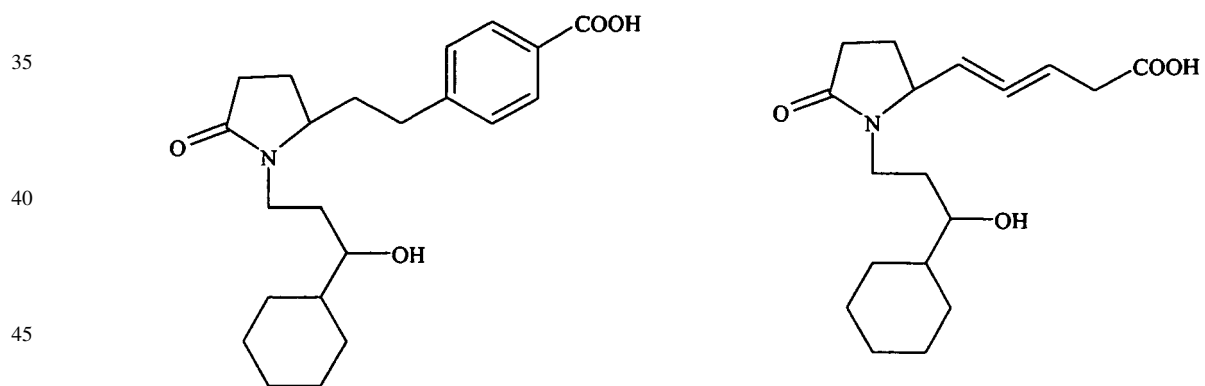


5  
10  
15  
20  
25  
30  
35  
40  
45  
50  
55  
60  
65

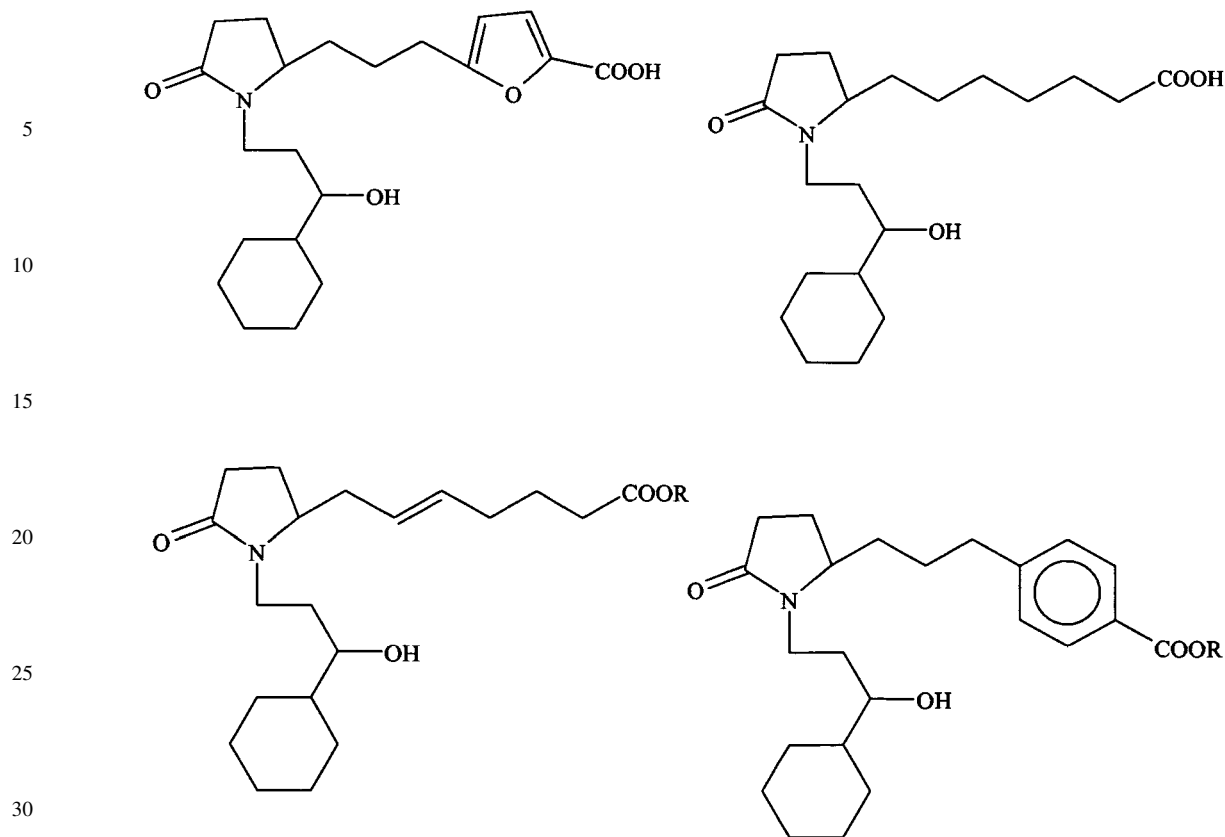




Otras estructuras preferidas incluyen:



ES 2 336 933 T3



35 donde R es un H, un grupo alquilo o un grupo arilo que forma un éster o una sal.

40 Como se ha analizado anteriormente, los compuestos preferidos de la invención presentan actividad en un ensayo de unión al receptor de prostaglandina DP<sub>1</sub> como se ha descrito, por ejemplo en el protocolo del Ejemplo 5 que se da más adelante. Generalmente, los compuestos preferidos de la invención tienen una K<sub>i</sub> (μM) de aproximadamente 100 o menor, más preferiblemente de aproximadamente 50 o menor, aún más preferiblemente una K<sub>i</sub> (μM) de aproximadamente 10 ó 20 o menor, todavía más preferiblemente una K<sub>i</sub> (pM) de aproximadamente 5 o menor en dicho ensayo de prostaglandina como se ejemplifica mediante el Ejemplo 5 proporcionado en el presente documento más adelante.

45 Los compuestos de pirrolidinona de la invención pueden prepararse fácilmente. Los procedimientos sintéticos adecuados se ejemplifican en el siguiente Esquema 1. Debe apreciarse que los compuestos mostrados en el siguiente Esquema son sólo ejemplares, y que otros varios compuestos pueden emplearse de una manera similar a la descrita a continuación.

50 Se proporcionan usos y composiciones farmacéuticas que comprenden administrar un agonista del receptor de prostaglandina DP<sub>1</sub> para el tratamiento de la infertilidad, incluyendo trastornos ovulatorios. Más específicamente, la presente invención se refiere a dichos usos y composiciones farmacéuticas para inducir la ovulación, particularmente el desencadenamiento de la ovulación; más específicamente, la presente invención se refiere a dichos usos y composiciones farmacéuticas para desencadenar la ovulación en pacientes sometidos a inducción de la ovulación o tratamientos TRA.

55 El término “agonista del receptor DP<sub>1</sub>” se refiere a un compuesto, incluyendo sus isómeros, pro-fármacos y sales farmacéuticamente aceptables, que se une al receptor de prostaglandina del sub-tipo DP<sub>1</sub>. Un agonista de prostaglandina del sub-tipo DP<sub>1</sub> puede identificarse por diversos ensayos convencionales, incluyendo un ensayo de unión a DP<sub>1</sub> de prostaglandina y un ensayo con AMP cíclico sobre células que sobre-expresan el receptor DP<sub>1</sub>. La persona especialista en la técnica puede usar otros ensayos convencionales apropiados para seleccionar los agonistas de DP<sub>1</sub>.

60 Los agonistas del receptor DP<sub>1</sub> de prostaglandina preferidos presentan actividad en un ensayo de unión al receptor de prostaglandina DP<sub>1</sub>, definiéndose un ejemplo del mismo en el protocolo como se define en el Ejemplo 5 proporcionado en el presente documento más adelante.

## ES 2 336 933 T3

Un grupo de agonistas del receptor DP<sub>1</sub> particularmente preferido de la invención tienen una Ki (nM) de aproximadamente 20 o menor, más preferiblemente de aproximadamente 10 o menor, aún más preferiblemente una Ki (nM) de aproximadamente 5 ó 2 o menor, todavía más preferiblemente una Ki (nM) de aproximadamente 1 o menor, adicionalmente más preferiblemente, una Ki (nM) de aproximadamente 0,1 o menor en un ensayo de unión al receptor de prostaglandina DP<sub>1</sub> como se ejemplifica mediante el Ejemplo 5 dado más adelante.

Otro agonista del receptor prostaglandina DP<sub>1</sub> preferido presenta actividad en un ensayo con AMPc sobre líneas celulares que sobre-expresan el receptor DP<sub>1</sub>, definiéndose un ejemplo de las mismas en el protocolo que se define en el Ejemplo 5, dado más adelante.

Otros grupo de agonistas del receptor DP<sub>1</sub> de la invención particularmente preferidos tienen una CE<sub>50</sub> (nM) de aproximadamente 30 o menor, más preferiblemente de aproximadamente 20 o menor, aún más preferiblemente una CE<sub>50</sub> (nM) de aproximadamente 10 o 5 o menor, todavía más preferiblemente una CE<sub>50</sub> (nM) de aproximadamente 1 o 0,1 o menor en dicho AMPc/receptor de DP<sub>1</sub> como se ejemplifica mediante el Ejemplo 5, dado más adelante.

Los agonistas del receptor DP<sub>1</sub> selectivos usados para desencadenar la ovulación pueden seleccionarse entre los agonistas de DP<sub>1</sub> descritos en la técnica que tienen las actividades de DP<sub>1</sub> preferidas mencionadas anteriormente en los ensayos de DP<sub>1</sub>.

Preferiblemente, dicho uso para inducir la ovulación es un uso en el que dicho agonista de DP<sub>1</sub> se selecciona entre compuestos de Fórmula VI en la que los sustituyentes A, B, D, R, U, Q, W, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> son iguales a los definidos en la Fórmula VI anterior.

Dicho uso para desencadenar la ovulación para inducir la ovulación o TRA es un uso en el que dicho agonista de DP<sub>1</sub> se selecciona entre compuestos de fórmula VI en la que A es H; B es alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido, preferiblemente butilo; D es un doble enlace; R es C(=O)Z en la que Z se selecciona entre hidrógeno, hidroxilo, alcoxi tal como -O-alquilo, preferiblemente -O-alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> (es decir, para proporcionar el éster C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, incluyendo metil, etil, propil o butil ésteres) y opcionalmente alquilo sustituido, preferiblemente alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>; o Z se selecciona entre amino o alquilamina tal como -NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup> donde R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> son independientemente hidrógeno o alquilo opcionalmente sustituido, preferiblemente alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, -NHSO<sub>2</sub>R<sup>3</sup> y -NHC(O)R<sup>3</sup> en la que R<sup>3</sup> se selecciona entre alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido y arilo opcionalmente sustituido; U es (CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub> en la que p es 0; Q es -CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-W, en la que R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> se seleccionan independientemente entre H, halógeno y alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido; W se selecciona entre cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido, heterocicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido y heteroarilo opcionalmente sustituido; y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

El uso para desencadenar la ovulación para inducir la ovulación o TRA es un procedimiento en el que el agonista usado se selecciona entre compuestos de fórmula VI en la que A es H; B es alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido, preferiblemente alquilo C<sub>3</sub> o C<sub>4</sub>; D es un enlace sencillo o un doble enlace *cis*; R es C(=O)Z en la que Z se selecciona entre hidrógeno, hidroxilo, alcoxi tal como -O-alquilo, preferiblemente -O-alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> (es decir, para proporcionar el éster C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, incluyendo metil, etil, propil o butil ésteres); o R es heteroarilo opcionalmente sustituido, preferiblemente incluyendo al menos un átomo de N, incluyendo tetrazolilo; U es (CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub> en la que p es 0; Q es -CH<sub>2</sub>-W, en la que W se selecciona entre cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido, heterocicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido y heteroarilo opcionalmente sustituido; y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

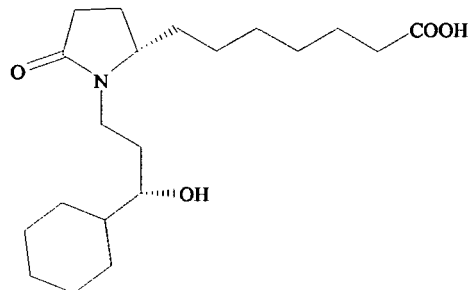
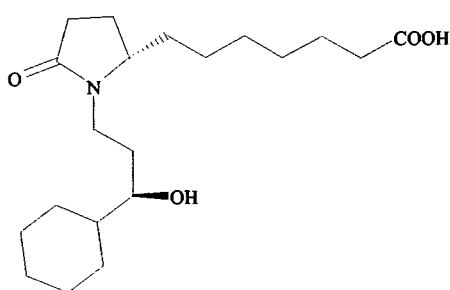
El uso para desencadenar la ovulación para inducir la ovulación o TRA es un procedimiento que usa un agonista de DP<sub>1</sub> seleccionado entre compuestos de fórmula VI en la que A es H; B se selecciona entre aril alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido, preferiblemente ariloxi, más preferiblemente feniloxi, -CH<sub>2</sub>-arilo opcionalmente sustituido y -CH<sub>2</sub>-heteroarilo opcionalmente sustituido; D es un enlace sencillo; R es C(=O)Z en la que Z se selecciona entre hidrógeno, hidroxilo y alcoxi tal como -O-alquilo, preferiblemente -O-alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> (es decir, para proporcionar el éster C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, incluyendo metil, etil, propil o butil ésteres); o R es heteroarilo opcionalmente sustituido, preferiblemente incluyendo al menos un átomo de N, incluyendo tetrazolilo; U es (CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub> en la que p es 0; Q es -CH<sub>2</sub>-W, en la que W se selecciona entre cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido, heterocicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido y heteroarilo opcionalmente sustituido; y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

También el uso para desencadenar la ovulación para inducir la ovulación o TRA es un procedimiento en el que dicho agonista de DP<sub>1</sub> se selecciona entre compuestos de fórmula VI en la que A es H; B es arilo opcionalmente sustituido, preferiblemente fenilo; D es un enlace sencillo; R es C(=O)Z en la que Z es hidroxilo; U es (CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub> en la que p es 0; Q es -CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-W, en la que R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> se seleccionan independientemente entre H y alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido, preferiblemente H o metilo; o R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> pueden formar un cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido con el carbono al que están unidos, preferiblemente un cicloalquilo C<sub>3</sub> o C<sub>4</sub> opcionalmente sustituido; W se selecciona entre alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido, preferiblemente metil propilo, butilo, pentilo, cicloalquil C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido, preferiblemente metil ciclopropilo, etil ciclopropilo, cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido, preferiblemente ciclopropilo, ciclopentilo, arilo opcionalmente sustituido, preferiblemente fenilo opcionalmente sustituido; y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

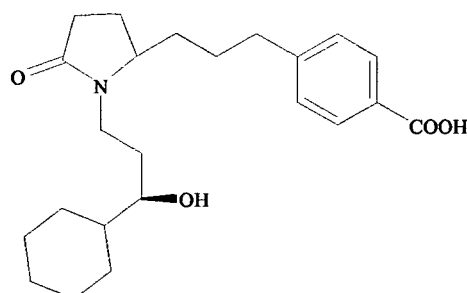
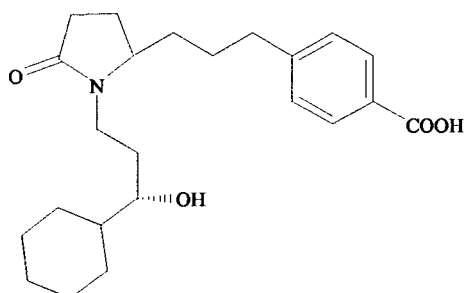
## ES 2 336 933 T3

Los agonistas de DP<sub>1</sub> de la invención específicamente preferidos para desencadenar la ovulación para inducir la ovulación o TRA, incluyen los siguientes compuestos representados y sales farmacéuticamente aceptables de estos compuestos:

5

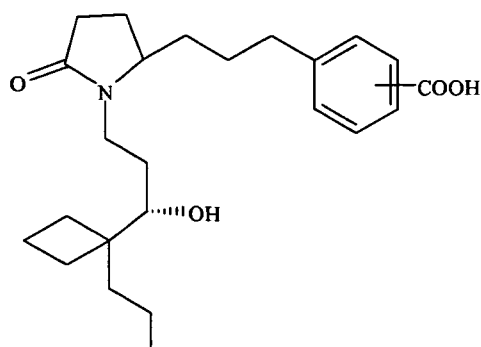
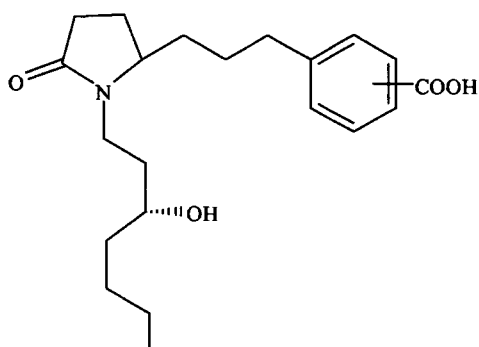


10



25

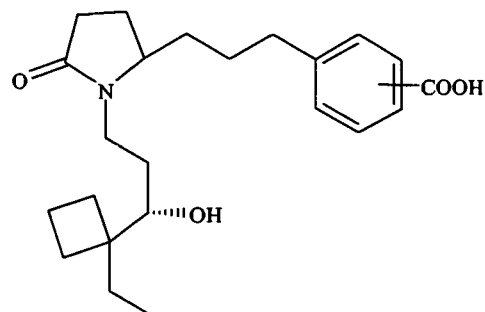
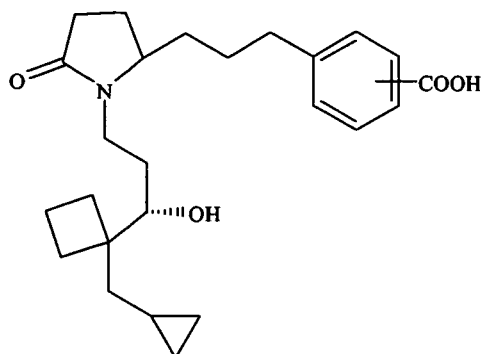
30



35

40

45



50

55

60

El término "alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>" se refiere a grupos alquilo monovalentes, ramificados o no ramificados que tienen de 1 a 6 átomos de carbono. Los ejemplos de grupos alquilo que se incluyen en esta expresión incluyen, aunque sin limitación, grupos tales como metilo, etilo, *n*-propilo, isopropilo, *n*-butilo, isobutilo, *terc*-butilo, *n*-hexilo y similares. Por analogía, la expresión "alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>" se refiere a grupos alquilo monovalentes, ramificados o no ramificados, que tienen de 1 a 4 átomos de carbono. Los ejemplos de grupos alquilo que se incluyen en esta expresión incluyen, aunque sin limitación, grupos tales como metilo; etilo, *n*-propilo, isopropilo, *n*-butilo, isobutilo, *terc*-butilo y similares.

## ES 2 336 933 T3

El término “heteroalquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>” se refiere a un grupo alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> de acuerdo con la definición anterior, en el que al menos un átomo de carbono está sustituido por heteroátomos elegidos entre el grupo constituido por O, S, NR, definiéndose R como hidrógeno o metilo. Los grupos heteroalquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> preferidos incluyen metoximetilo, metoxietilo, metoxibutilo, y similares.

5

El término “alqueno C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>” se refiere a grupos alqueno que preferiblemente tienen de 2 a 6 átomos de carbono y que tienen al menos 1 ó 2 sitios de insaturación alqueno. Los grupos alqueno preferibles incluyen etenilo (-CH=CH<sub>2</sub>), *n*-2-propenilo (alilo, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>) y similares.

10

El término “alquino C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>” se refiere a grupos alquino que preferiblemente tienen de 2 a 6 átomos de carbono y que tienen al menos 1 ó 2 sitios de insaturación alquino. Los grupos alquino preferidos incluyen etinilo, (-C≡CH), propargilo (-CH<sub>2</sub>C≡H), y similares.

15

Los términos “heteroalqueno C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>” y “heteroalquino C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>” se refieren, respectivamente, a alqueno C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> y alquino C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, en los que al menos un átomo de carbono se ha sustituido por heteroátomos elegidos entre el grupo constituido por O, S, NR, definiéndose R como hidrógeno o metilo. Los ejemplos de heteroalqueno C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> incluyen metoxi propenilo, metoxi butenilo, y similares. Los ejemplos de heteroalquino C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> incluyen metoxi propinilo, metoxi butinilo, y similares.

20

El término “cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>” se refiere a anillos carbocíclicos saturados que tienen de 3 a 6 átomos de carbono. Los ejemplos incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, y similares. También pueden usarse los anillos insaturados, por ejemplo, ciclohexenilo.

25

El término “heterocicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>” se refiere a un grupo cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> de acuerdo con la definición anterior, en el que hasta 3 átomos de carbono están sustituidos por heteroátomos elegidos entre el grupo constituido por O, S y NR, definiéndose R como hidrógeno o metilo.

Los heterocicloalquilos preferidos incluyen pirrolidina, piperidina, piperazina, 1-metilpiperazina, morfolina, y similares.

30

El término “cicloalquil C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>” se refiere a grupos alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, como se ha definido anteriormente, que tienen anillos carbocíclicos saturados que tienen de 3 a 6 átomos de carbono como sustituyentes. Los ejemplos incluyen etil ciclobutilo, ciclopropilmetil ciclobutilo y similares.

35

El término “arilo” se refiere a grupos carbocíclicos aromáticos de 6 a 14 átomos de carbono que tienen un solo anillo (por ejemplo, fenilo) o múltiples anillos condensados (por ejemplo, naftilo). Los ejemplos incluyen fenilo, naftilo, fenantrenilo y similares.

40

El término “aril alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>” se refiere a grupos alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> que tienen un sustituyente arilo, incluyendo bencilo, fenetilo y similares.

El término “pro-fármaco” se refiere a compuestos que son precursores de fármacos que, después de la administración, liberan el fármaco *in vivo* por algún procedimiento químico o fisiológico.

45

El término “agonista de DP<sub>1</sub>” se refiere a un compuesto, incluyendo sus isómeros, pro-fármacos y sales farmacéuticamente aceptables, que se une a un receptor de prostaglandina del subtipo DP<sub>1</sub>. Dicha propiedad pueden determinarla fácilmente los especialistas en la técnica (por ejemplo, véase Boie, Y. *et al* Eur. J. Pharmacol. 1997, 340, 227-241 o Abramovitz M. *et al* Biochim at Biophysica Acta 2000, 1483, 285-293). Varios de estos compuestos se describen y mencionan en el presente documento. Sin embargo, los especialistas en la técnica conocerán otros agonistas de prostaglandina DP<sub>1</sub>. Los agonistas de DP<sub>1</sub> ejemplares se describen de la siguiente manera.

50

La expresión “unión selectiva al receptor de DP<sub>1</sub>” se refiere a compuestos que son selectivos en comparación con otros receptores de prostaglandinas, particularmente DP<sub>2</sub>, EP<sub>1</sub> y/o EP<sub>3</sub>, opcionalmente EP<sub>2</sub>. La selectividad en relación con esto significa que la afinidad de los compuestos de la invención por el receptor de DP<sub>1</sub> es al menos más de 2 veces mayor que la afinidad por otro receptor de prostaglandina, más preferiblemente, la afinidad es al menos 5 veces mayor, todavía más preferiblemente la afinidad es más de 10 veces y en particular más de 100 ó 1000 veces la afinidad por otros receptores de prostaglandinas como EP<sub>1</sub> o EP<sub>3</sub> y al menos más de 2 veces, especialmente más de 10 veces la afinidad por el receptor DP<sub>2</sub>.

60

La expresión “afección o afecciones relacionadas con la fertilidad” se refiere también a una afección, particularmente infertilidad, de un mamífero hembra, especialmente un paciente femenino. Esta afección incluye afecciones en las que el desencadenamiento de la ovulación es necesario. Los ejemplos de pacientes femeninas con dicha afección son mujeres sometidas a un tratamiento para inducir la ovulación o a terapias de Tecnología de Reproducción Asistida (TRA).

65

La expresión “inducción de la ovulación” (IO), se refiere a la estimulación de la liberación de un oocito (ocasionalmente dos o tres oocitos) hacia las trompas de Falopio de una paciente femenina, para fertilización *in vivo*. La IO se usa en pacientes anovulatorias [por ejemplo, pacientes del grupo I de WHO (hipogonadismo hipogonado-

tráfico) y anovulación del grupo II de WHO (disfunción hipotalámica-pituitaria dando como una función gonadal obstaculizada o atenuada), incluyendo pacientes que padecen síndrome de ovario poliquístico (SOPQ)]. Normalmente se desea estimular la liberación de un único oocito, para evitar los riesgos asociados con embarazos múltiples. En una inducción típica del régimen de ovulación, se administra a la paciente FSH, un análogo de FSH o una molécula estimuladora de la producción endógena de FSH para estimular el crecimiento folicular durante varios días hasta que se observa al menos un folículo (por ultrasonidos) con un diámetro medio de aproximadamente 17 mm o mayor. En esta fase, se realiza un desencadenamiento de la ovulación (hCG) para estimular la rotura del folículo y la liberación de un oocito en la trompa de Falopio (“desencadenamiento de la ovulación”). Las moléculas de la invención pueden sustituir o complementar la dosis de desencadenamiento de la ovulación de hCG en un régimen de IO. Se contemplan específicamente terapias combinadas que usan una combinación del compuesto de la presente invención y uno o más de los compuestos empleados tradicionalmente en un régimen de IO.

La expresión “Tecnología de Reproducción Asistida” incluye, por ejemplo, fertilización *in vitro* (FIV), e inyección de esperma intracitoplásmica (IEIC). Los oocitos se recogen de los folículos maduros inmediatamente antes de su ruptura, y se clasifican antes de fertilizarlos *in vitro* por combinación con esperma. Los embriones resultantes se clasifican según su calidad y normalmente se seleccionan de 2 a 3 para su colocación en el útero (los embriones restantes pueden ser criopreservados para futuros intentos).

Debido a los muchos factores implicados en la estabilización de un embarazo en desarrollo, a muchas pacientes se les colocan oocitos en el útero múltiples veces antes de lograr el éxito. Debido a esto, en contraste con los regímenes OI, para TRA se desea recoger múltiples oocitos, para maximizar las ocasiones de embarazo exitoso. El desarrollo controlado de folículos pre-ovulatorios múltiples por administración de agentes exógenos capaces de inducir el crecimiento folicular (tal como FSH) se denomina hiperestimulación ovárica controlada (HOC). Cuando hay al menos 3 folículos con un diámetro medio mayor de 16 mm, la ovulación se desencadena (bolo de hCG). Los oocitos se recuperan normalmente a partir de folículos pre-ovulatorios, por aspiración. Las moléculas de la invención pueden sustituir o complementar la dosis de desencadenamiento de la ovulación de hCG en un régimen TRA.

La invención se describirá a continuación mediante los siguientes Ejemplos.

#### Abreviaturas

Las siguientes abreviaturas se usan posteriormente en el presente documento en los ejemplos adjuntos: min (minuto), h (hora), i.p. (intra-peritoneal), i.v. (intra-venosa), mg (miligramos), mmol (milimol), mM (milimolar), nM (nanomolar), eq (equivalentes), ml (mililitros),  $\mu$ l (microlitros), ACN (acetonitrilo), BP (presión arterial media), BSA (Albúmina de Suero Bovino), AMPc (adenosina monofosfato cíclico), DCM (diclorometano), DMSO (dimetilsulfóxido), EtOAc (acetato de etilo), FBS (Suero Bovino Fetal), COB (Cobaya), hCG (Gonadotropina Coriónica humana), FC (frecuencia cardíaca), IT (intratraqueal), LPS (lipopolisacáridos), MES (ácido 2-[N-morfolino]etanosulfónico), MgSO<sub>4</sub> (sulfato de magnesio), NP3S (N-metil-pirrolidina), PBS (solución salina tamponada con fosfato), PEG (Polietilenglicol), PGE1 (Prostaglandina E1), PGE2 (Prostaglandina E2), PMSG (gonadotropina de suero de yegua preñada), p.o. (*per os*, administración oral), PVT (poliviniltolueno), PSS (solución salina fisiológica), TA (temperatura ambiente), SPA (Ensayo de centelleo por proximidad), TFA (ácido trifluoroacético), THF (tetrahidrofurano), TNF (Factor de Necrosis Tumoral).

#### Síntesis de los Compuestos de la Invención

Los compuestos de la invención pueden prepararse fácilmente a partir de materiales de partida fácilmente disponibles usando los siguientes métodos y procedimientos generales.

Los procedimientos sintéticos adecuados se ejemplifican en el siguiente Esquema 1 ilustrativo. Debe apreciarse que los compuestos mostrados en el siguiente Esquema son únicamente ejemplares, y que otros diversos compuestos pueden emplearse de una manera similar a la descrita a continuación. Además, cada uno de los intermedios aislables descritos en el presente documento se indican específicamente como materiales de partida útiles y/o compuestos terapéuticos por sí mismos.

Los compuestos que tienen sustituyentes distintos de hidrógeno en la posición 5 del anillo pueden proporcionarse usando un reactivo de partida que tiene dicha sustitución. También se apreciará que aunque se dan condiciones experimentales típicas o preferidas (es decir, temperatura de las reacciones, tiempo, moles de reactivos, disolventes etc.), pueden usarse también otras condiciones experimentales a menos que se indique otra cosa. Las condiciones de reacción óptimas pueden variar con los reactantes o disolventes particulares usados. Dichas condiciones pueden determinarse por una persona especialista en la técnica, usando procedimientos de optimización rutinarios.

La síntesis general de derivados de gamma-lactama que actúan como agonistas selectivos de DP<sub>1</sub> se describe en los esquemas 1-3 a continuación. La preparación del derivado prolinato de bencilo 6 se obtuvo como se indica en el esquema 1. La reacción de bromuro de vinil magnesio con una amida de Weinreb 2 adecuada dio un buen rendimiento

## ES 2 336 933 T3

del derivado de enona 3 deseado que se usó para alquilar H-D-Glu(OBn)-OBn mediante una reacción de Michael. El producto del cierre del anillo 5 se obtuvo mediante una ciclación intramolecular formando el enlace amida calentado a reflujo en el disolvente apropiado durante varias horas. El derivado de pirrolidin-2-ona contenía la estereoquímica deseada heredada del derivado del aminoácido no natural (D)-Glu.

5

Esquema 1

10

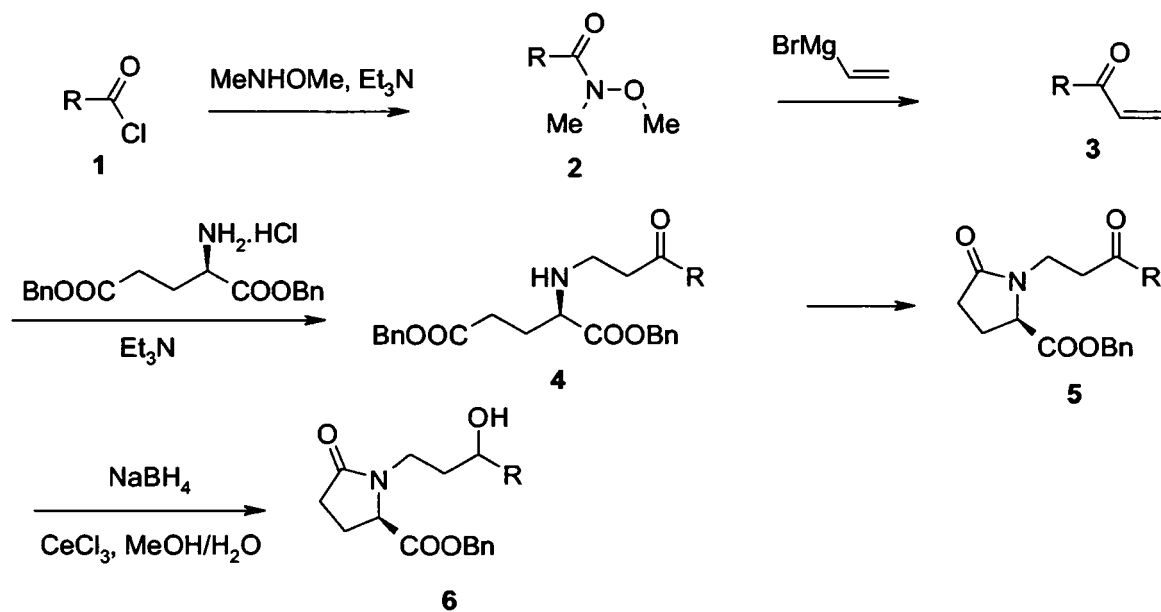
15

20

25

30

35



La cetona 5 puede reducirse de manera no específica en condiciones de Luche usando  $\text{NaBH}_4$  y  $\text{CeCl}_3$  en  $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ . Los diaestereoisómeros resultantes pueden aislarse por cromatografía en columna. La reducción quiral del intermedio cetona podría obtenerse usando el reactivo quiral 2-metil-CBS-oxazaborolidina y el complejo  $\text{BH}_3 \cdot \text{THF}$  a temperatura ambiente (esquema 2). La 2-metil-CBS-oxazaborolidina es un reactivo quiral y debe entenderse que pueden usarse también otros agentes quirales.

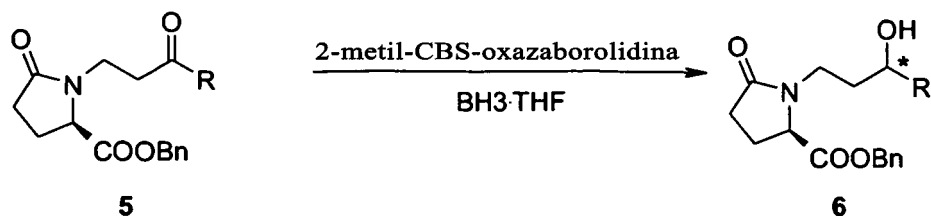
40

45

Esquema 2

50

55

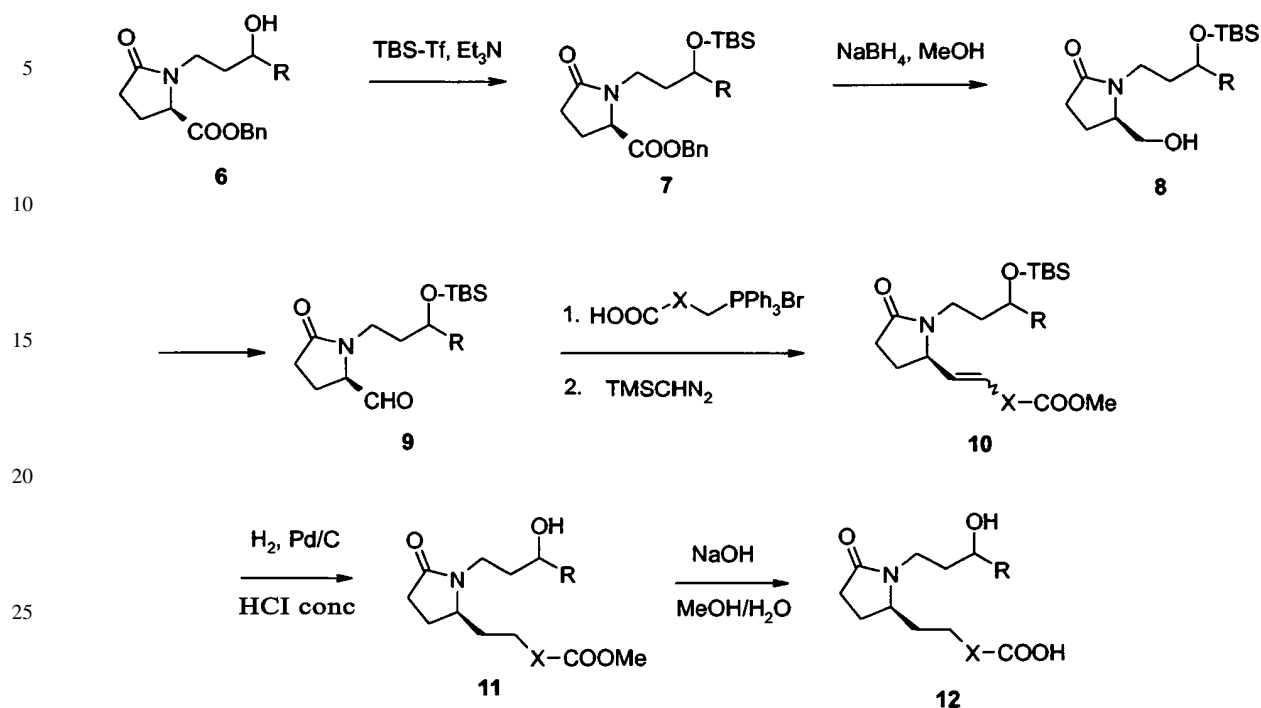


La síntesis de los compuestos finales se realizó entonces como se describe en el Esquema 3. La protección del resto alcohol con un grupo protector adecuado tal como TBS seguido de la reducción del grupo éster dio con buen rendimiento el derivado de pirrolidin-2-ona 8. La oxidación de Swern del alcohol primario dio el intermedio aldehído 9. La reacción de Wittig usando el fosfonato deseado seguido de la esterificación del intermedio ácido produjo el intermedio 10. La hidrogenación catalítica del doble enlace en condiciones ácidas dio el intermedio alcohol 11. La saponificación del grupo éster dio con un rendimiento casi cuantitativo el derivado de pirrolidin-2-ona deseado.

60

65

Esquema 3



Las síntesis preferidas adicionales de los compuestos de la invención se detallan en los ejemplos proporcionados más adelante.

Los usos preferidos de la invención incluyen inhibir la contracción indeseada del músculo liso, incluyendo la contracción indeseada del músculo liso inducida por prostanoides. El uso de la invención incluye el tratamiento de un paciente que padece o es susceptible de padecer dismenorrea, parto prematuro, asma y otras afecciones que pueden aliviarse por broncodilatación, inflamación, hipertensión, coagulación de la sangre indeseada (por ejemplo, para reducir o prevenir la trombosis) y otras actividades plaquetarias indeseadas, preeclampsia y/o eclampsia y trastornos relacionados con eosinófilos (trastorno eosinófilos).

El tratamiento y/o prevención de la coagulación de la sangre indeseada puede incluir el tratamiento y profilaxis de trombosis venosa y embolia pulmonar, trombosis arterial, por ejemplo, isquemia de miocardio, infarto de miocardio, angina inestable, apoplejía asociada con trombosis, y trombosis arterial periférica. Los compuestos de la invención pueden ser útiles también para anticoagulación, implicando órganos artificiales, válvulas cardíacas, instrumentos médicos (por ejemplo, un dispositivo intravascular tal como un catéter, una endoprótesis vascular, etc.) y similares.

La invención también incluye usos para el tratamiento de la infertilidad que generalmente comprenden la administración de uno o más compuestos de pirrolidina de la invención a un mamífero, particularmente un primate tal como un ser humano, que padece o que se sospecha que padece infertilidad. Véase Merck Manual, vol. 2, páginas 12-17 (16ª ed.) para la identificación de pacientes que padecen o que se sospecha que padecen infertilidad, que en el caso de los seres humanos, puede incluir la imposibilidad de concebir durante un año de relaciones sexuales sin protección.

Los procedimientos de tratamiento pueden ser particularmente beneficiosos para mamíferos hembra que padecen un trastorno ovulatorio. Además, los compuestos de la invención pueden administrarse a mujeres que están siguiendo tratamientos de reproducción asistida tales como fertilización *in vitro*, por ejemplo, para estimular el desarrollo y maduración folicular, así como procedimientos de implante. En particular, los procedimientos de tratamiento pueden usarse junto con tecnología de fertilización *in vitro* para potenciar la supervivencia y/o fertilización de óvulo de mamífero tal como en el caso de la FIV.

Los usos de la invención también puede emplearse para controlar la maduración del cuello del útero al final del embarazo (por ejemplo, en seres humanos, el final del embarazo sería el tercer trimestre, particularmente de la semana 30 en adelante).

Los usos de la invención también incluyen el tratamiento del glaucoma u otro trastorno que implique una presión intra-ocular elevada.

Los usos de la invención también incluyen la inhibición o prevención de pérdida ósea tal como para tratar la osteoporosis, y para estimular la formación ósea (por ejemplo, para uso como una terapia en una fractura ósea) y otras

## ES 2 336 933 T3

enfermedades ósea tales como la enfermedad de Pager. La invención también incluye usos para tratar a un mamífero que tiene una baja masa ósea, o que es susceptible de tener una baja masa ósea tal como un mamífero que tiene una afección que puede presentar una baja masa ósea, por ejemplo, osteoporosis.

5 La invención también incluye usos para otros tratamientos de aumento o potenciación de la masa ósea, tales como potenciar las tasas de éxito del injerto óseo o sustituir la necesidad de dichos injertos, extensión ósea, curado de huesos después de una reconstrucción facial y otros tratamientos. Dicho tratamiento puede usarse también en coordinación con un dispositivo médico apropiado, tal como un dispositivo ortopédico, por ejemplo, una coraza vertebral, clavos y tornillos óseos, y otros dispositivos de fijación ósea.

10 En general, dichas terapias son útiles para cualquier afección que puede presentar una baja masa ósea, afecciones que incluyen aquellas en las que el nivel de masa ósea está por debajo de lo normal específico para una edad como se define en las normas por la Organización Mundial de la Salud "Assessment of Fracture Risk and its Application to Screening for Postmenopausal Osteoporosis (1994), World Health Organization Technical Series 843". Más particularmente, dichas afecciones incluyen enfermedad periodontal, pérdida ósea alveolar, pérdida ósea post-osteotomía e infantil idiopática, y osteoporosis primaria y secundaria como se ha analizado anteriormente y complicaciones de las mismas tales como curvatura de la columna vertebral, pérdida de altura y cirugía protésica.

15 Los sujetos particularmente adecuados para dichas terapias de estimulación del crecimiento óseo incluyen sujetos que padecen lesiones agudas que pueden implicar daño óseo, sujetos que han experimentado cirugía relacionada tal como reconstrucción facial, y sujetos en riesgo elevado de los trastornos y enfermedades analizados anteriormente tales como mujeres post-menopáusicas y hombres y mujeres con una edad superior a los 50 o 60 años.

20 Los compuestos de la invención también serán útiles para tratar la disfunción sexual, incluyendo la disfunción sexual masculina, tal como la disfunción eréctil.

25 Los compuestos de la invención también son útiles para el tratamiento de un sujeto que padece o es susceptible de padecer disfunción renal, incluyendo un mamífero que padece o es susceptible de padecer insuficiencia renal aguda o crónica. Dichos procedimientos de tratamiento pueden estimular la reparación y/o regeneración del tejido del riñón en un mamífero, particularmente un ser humano.

30 Los compuestos de la invención también son útiles para el tratamiento de un sujeto que padece o es susceptible de padecer un trastorno inmune incluyendo una enfermedad o trastorno por deficiencia inmune, incluyendo un trastorno asociado con una infección viral, particularmente una infección retroviral tal como una infección por VIH. Se beneficia particularmente de dichas terapias un ser humano que padece o es susceptible de padecer SIDA.

35 Los compuestos de la invención serán útiles también para reducir la presión intraocular elevada de un sujeto, por ejemplo, mediante la relajación del músculo ciliar aislado contraído previamente. En particular, un mamífero tal como un ser humano que padece o que es susceptible de padecer glaucoma u otro trastorno asociado con la presión intraocular elevada puede tratarse con los compuestos de la presente invención. Los compuestos de la invención serán útiles también para el tratamiento de un mamífero, particularmente un ser humano que padece o es susceptible de padecer xerofthalmía.

40 Los compuestos de la invención serán útiles adicionalmente para tratamiento de un sujeto que padece o es susceptible de padecer enfermedades o trastornos inflamatorios, incluyendo inflamación vascular, dolor inflamatorio e hiperalgesia.

45 Los compuestos de la invención serán útiles también para estimular el sueño en un sujeto, por ejemplo, para tratar a un mamífero, particularmente un ser humano, que padece o es susceptible de padecer un trastorno del sueño tal como el asociado con una edad avanzada, tal como un ser humano de 65 años o mayor.

50 Los procedimientos terapéuticos comprenden generalmente la administración de una cantidad eficaz de uno o más compuestos de la invención a un sujeto, incluyendo un mamífero, tal como un primate, especialmente un ser humano, en necesidad de dicho tratamiento.

55 Los candidatos típicos para el tratamiento de acuerdo con la invención son personas que padecen o que se sospecha que padecen cualquiera de los trastornos o enfermedades anteriores, tal como una mujer susceptible de padecer o que padece parto prematuro, o un sujeto que padece o es susceptible de padecer dismenorrea o pérdida ósea indeseada.

60 Los usos de acuerdo con la invención serán útiles también para el tratamiento de mamíferos distintos de seres humanos, incluyendo aplicaciones veterinarias tales como tratar caballos y ganado, por ejemplo, reses, ovejas, vacas, cabras, cerdos y animales de compañía tales como perros y gatos. Los procedimientos de la invención para tratar el parto prematuro serán particularmente útiles para dichas aplicaciones veterinarias. Los procedimientos terapéuticos de la invención también serán útiles para el tratamiento de la infertilidad en dichas aplicaciones veterinarias.

65 Para aplicaciones de diagnóstico o investigación, una gran diversidad de mamíferos serán los sujetos adecuados, incluyendo roedores (por ejemplo, ratones, ratas, hámsteres), conejos, primates y cerdos tales como cerdos endogámicos. Además, para las aplicaciones *in vitro*, tales como aplicaciones de diagnóstico e investigación *in vitro*, los

## ES 2 336 933 T3

fluidos corporales (por ejemplo, sangre, plasma, suero, fluido intersticial celular, saliva, heces y orina) y las muestras de células y tejido de los sujetos anteriores serán adecuados para el uso.

5 Los compuestos de la invención, incluyendo compuestos de 5-pirrolidinona 1,2-sustituidos y agonistas de DP<sub>1</sub>, pueden administrarse como una formulación “combinada” con otros compuestos terapéuticos, es decir, una administración coordinada para un uso simultáneo, secuencial o separado, de uno o más compuestos de la invención junto con uno o más compuestos terapéuticos activos, particularmente uno o más agentes de fertilidad distintos conocidos. Por ejemplo, uno o más compuestos de la invención pueden administrarse en coordinación para un uso simultáneo, secuencial o separado, con un régimen de un agente de alivio del dolor, un agente anti-inflamatorio, o un anti-coagulante, dependiendo de la indicación a tratar.

Los anti-coagulantes adecuados para dichas terapias coordinadas con el fármaco incluyen por ejemplo, warfarina, heparina, hirudina o hirulo o un anti-plaquetario tal como ReoPro.

15 Para el tratamiento de los trastornos de la fertilidad, uno o más compuestos de la invención pueden administrarse en coordinación para un uso simultáneo, secuencial o separado, con agentes de fertilidad conocidos tales como la Hormona Estimulante del Folículo y/o Leutinizante tal como Gonol-F, Metrodin HP o Pergonal.

20 Los compuestos de la invención, incluyendo compuestos de 5-pirrolidinona 1,2-sustituidos y agonistas de DP<sub>1</sub>, pueden administrarse como un compuesto terapéutico activo único o en un régimen coordinado con uno o más compuestos terapéuticos distintos, que pueden administrarse por diversas rutas, tal como por vía oral o por inyección, por ejemplo, por inyección intramuscular, intraperitoneal, subcutánea o intravenosa, o por vía tópica, tal como por vía transdérmica y vaginal. Los compuestos de pirrolidina de la invención pueden administrarse adecuadamente a un sujeto en una forma protonada y soluble en agua, por ejemplo, en forma de una sal farmacéuticamente aceptable de un ácido orgánico o inorgánico, por ejemplo, clorhidrato, sulfato, hemi-sulfato, fosfato, nitrato, acetato, oxalato, citrato, maleato, mesilato. Si el compuesto tiene un grupo ácido, por ejemplo, un grupo carboxi, pueden prepararse sales de adición de bases. Pueden encontrarse listas de sales adecuadas adicionales, por ejemplo, en la Parte 5 de Remington's Pharmaceutical Sciences, 20<sup>a</sup> Edición, 2000, Marck Publishing Company, Easton, Pennsylvania.

30 Los compuestos de la invención pueden emplearse, en solitario o junto con uno o más agentes terapéuticos distintos como se ha analizado anteriormente, en forma de una composición farmacéutica en una mezcla con excipientes convencionales, es decir, sustancias de soporte orgánicas o inorgánicas farmacéuticamente aceptables adecuadas para aplicación oral, parenteral, enteral o tópica que no reaccionan perjudicialmente con los compuestos activos y no son perjudiciales para el destinatario de las mismas. Los vehículos farmacéuticamente aceptables adecuados incluyen, aunque sin limitación, agua, soluciones salinas, alcohol, aceites vegetales, polietilenglicoles, gelatina, lactosa, amilosa, estearato de magnesio, talco, ácido silícico, parafina viscosa, aceite de perfume, monoglicéridos y diglicéridos de ácido graso, ésteres de ácido graso de petróleo, hidroximetil-celulosa y polivinilpirrolidona. Las preparaciones farmacéuticas pueden esterilizarse y, si se desea, pueden mezclarse con agentes auxiliares, por ejemplo, lubricantes, conservantes, estabilizadores, agentes humectantes, emulsionantes, sales para influir en la presión osmótica, tampones, colorantes, aromatizantes y/o sustancias aromáticas que no reaccionan perjudicialmente con los compuestos activos.

45 Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden incluir preferiblemente un compuesto de la invención, incluyendo compuestos de 5-pirrolidinona 1,2-sustituidos y agonistas de DP<sub>1</sub>, envasarse junto con instrucciones (escritas) para el uso terapéutico del compuesto para tratar, por ejemplo, parto prematuro, dismenorrea o asma, u otro trastorno como se describe en el presente documento, tal como una enfermedad o trastorno asociado con o mediado por prostaglandina.

50 Para la administración oral, pueden formularse composiciones farmacéuticas que contienen uno o más compuestos de la invención, incluyendo compuestos de pirrolidina sustituidos y agonistas de DP<sub>1</sub>, en forma de, por ejemplo, comprimidos, trociscos, pastillas, suspensiones acuosas u oleosas, polvos o gránulos dispersables, emulsiones, cápsulas duras o blandas, jarabes y elixires. Son típicamente adecuados los comprimidos, grageas o cápsulas que tienen un aglutinante de talco y/o carbohidrato con vehículo, siendo el vehículo preferiblemente lactosa y/o almidón de maíz y/o almidón de patata. Puede usarse un jarabe o elixir en el que se emplea un vehículo edulcorado. Las composiciones de liberación sostenida pueden formularse incluyendo aquellas en las que el componente activo se protege con revestimientos degradables diferencialmente, por ejemplo, por microencapsulación o revestimientos múltiples.

60 Para aplicación parenteral, por ejemplo, sub-cutánea, intraperitoneal o intramuscular, son particularmente adecuadas las soluciones, preferiblemente las soluciones acuosas u oleosas así como las suspensiones, emulsiones, o implantes, incluyendo supositorios. Las ampollas son dosificaciones unitarias convenientes.

65 Se apreciará que las cantidades reales preferidas de los compuestos activos usadas en una terapia dada variarán de acuerdo con el compuesto específico utilizado, las composiciones particulares formuladas, el modo de aplicación, el sitio particular de administración, etc. Las velocidades óptimas de administración para un protocolo de administración dado pueden determinarlas fácilmente los especialistas en la técnica usando ensayos convencionales de determinación de la dosificación realizados con respecto a las directrices anteriores. Véase también Remington's Pharmaceutical Sciences, *supra*. En general, una dosis eficaz adecuada de uno o más compuestos de 5-pirrolidinona 1,2-sustituidos de la invención, particularmente cuando se usa el compuesto o compuestos más potentes de la invención, estará en el intervalo de 0,01 a 100 miligramos por kilogramo de peso corporal del destinatario por día, preferiblemente en

## ES 2 336 933 T3

el intervalo de 0,01 a 20 miligramos por kilogramo de peso corporal del destinatario por día, más preferiblemente en el intervalo de 0,03 a 4 miligramos por kilogramo de peso corporal del destinatario por día. La dosis deseada se administra adecuadamente una vez al día, o varias sub-dosis, por ejemplo, de 2 a 4 sub-dosis, se administran a los intervalos apropiados a lo largo del día, y en otro programa apropiado. Dichas sub-dosis pueden administrarse como formas de dosificación unitarias que contienen, por ejemplo, de 0,05 a 10 miligramos del compuesto o compuestos de la invención, por unidad de dosificación.

En los siguientes ejemplos, "rac." se refiere a un racemato o una mezcla racémica del compuesto especificado.

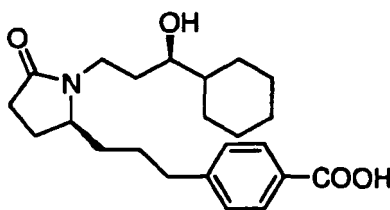
### 10 Ejemplos

Los siguientes ejemplos se incluyen para demostrar las realizaciones preferidas de la invención. Los especialistas en la técnica deben apreciar que las técnicas descritas en los siguientes ejemplos representan técnicas descubiertas por el inventor que funcionan bien en la práctica de la invención y, de esta manera, puede considerarse que constituyen modos preferidos para su realización práctica. Sin embargo, los especialistas en la técnica, a la luz de la presente descripción, deben apreciar que pueden hacerse muchos cambios en las realizaciones específicas que se han descrito y aún obtener un resultado parecido o similar.

Todos los reactivos se usaron sin purificación adicional, tal cual se recibieron de las fuentes comerciales, Acros o Aldrich, a menos que se indique otra cosa. Los disolventes anhidros se adquirieron en Acros en frascos AcroSeal. Se usó gel de sílice de malla 230-400 (Calidad 60 Å) de Fisher Scientific para la cromatografía en columna. Se usaron placas F254 pre-revestidas con gel de sílice 60 para la cromatografía en capa fina, espesor de la capa 250  $\mu\text{m}$ , 2,5 x 7,5 cm para el análisis por CCF. Los espectros de masas se obtuvieron con un espectrómetro Finnigan LCQDuo CL/MSD de ThermoQuest. Los espectros de RMN se obtuvieron con un espectrómetro Jeol Eclipse 400 (400 MHz). Los desplazamientos químicos se dan respecto a TMS. La asignación de las señales de RMN se realizó, cuando fue necesario, a partir de la correlación C-H y los espectros COSY.

#### Ejemplo 1

*Síntesis de ácido 4-(3-(2S)-1-(3R)-3-ciclohexil-3-hidroxiopropil]-5-oxotetrahidro-1H-2-pirrolilpropil)benzoico*



#### Intermedio 1.1

*Bromuro de 4-carboxifenetil(trifenil)fosfonio*

Se calentaron a reflujo ácido p-bromoetilbenzoico (15 mmol, 3,45 g) y trifetilfosfina (16,5 mmol, 4,32 g) en 100 ml de m-xileno durante 9 h (temperatura del baño de aceite, 150°C). La mezcla después se enfrió, el sólido formado se filtró, se lavó con m-xileno (2 x 20 ml), hexanos (2 x 20 ml), y se secó al aire dando 6,05 g (82%) de cristales de color beige. La recristalización en MeOH-CHCl<sub>3</sub>-hexanos (~1:3:5) dio 2,8 g (38%) de cristales blanquecinos puros de bromuro de 4-carboxifenetil(trifenil)fosfonio. RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7,74 (d, 2 H, 8,4 Hz, H<sub>2</sub>, H<sub>6</sub> Ar), 7,68 (m, 3 H, Ph<sub>3</sub>P), 7,55 (m, 12 H, Ph<sub>3</sub>P), 7,09 (d, 2 H, 8,4 Hz, H<sub>3</sub>, H<sub>5</sub> Ar), 3,48 (m, 2 H, CH<sub>2</sub>-P), 2,86 (m, 2 H, CH<sub>2</sub>-Ar).

#### Intermedio 1.2

*N-Metil-N-metoxi-ciclohexanocarboxamida*

En un matraz de fondo redondo, lavado con nitrógeno, secado, se suspendió clorhidrato de N,O-dimetil hidroxilamina (0,1 mol, 13,3 ml) en 200 ml de diclorometano anhidro. A la mezcla resultante se le añadió trietilamina (0,22 mol, 30 ml) gota a gota en ~5 min mientras se enfriaba con agua (la agitación se hizo difícil debido a la formación de sales). A la mezcla resultante, mientras se agitaba en atmósfera de nitrógeno y se enfriaba con agua enfriada con hielo, se le añadió cloruro de ciclohexanocarbonilo gota a gota en ~15 min. La mezcla se agitó durante una noche, se lavó con agua (50 ml), NH<sub>4</sub>Cl acuoso saturado (50 ml), después con salmuera (50 ml), se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, y se concentró dando 17,8 g del producto bruto. La purificación sobre 150 g de gel de sílice, eluyente hexanos - acetato de etilo, de 100:0 a 50:50, dio 13,6 g (80%) de N-metil-N-metoxi-ciclohexanocarboxamida en forma de un aceite transparente, R<sub>f</sub> 0,44 (hexanos-EtOAc 1:1), RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  3,67 (s, 3 H, OCH<sub>3</sub>), 3,15 (s, 3 H, NCH<sub>3</sub>), 2,65 (m, 1 H, CH-CO), 1,8-1,6 (m, 5 H, ciclohexilo), 1,5-1,4 (cm, 2 H, ciclohexilo), 1,3-1,2 (m, 3 H, ciclohexilo).

## ES 2 336 933 T3

### Intermedio 1.3

#### *1-ciclohexilprop-2-en-1-ona*

5 A la solución en agitación de N-metil-N-metoxi-ciclohexanocarboxamida (0,05 mol, 8,5 g) en 150 ml de THF anhidro a -10 - 0°C (baño hielo-NaCl) se le añadió gota a gota la solución de bromuro de vinil magnesio (1 M en THF, 0,1 mol, 100 ml). La mezcla resultante se agitó a 0°C durante 1 h (formándose un sólido de color blanco), después a ta durante 4 h (el sólido se disolvió). La solución resultante se añadió lentamente mediante una cánula en un matraz Erlenmeyer bien enfriado equipado con agitador magnético y termómetro, que contenía 0,5 l de NH<sub>4</sub>O  
10 acuoso saturado, con una velocidad tal que la temperatura permanece entre 0°C y +10°C, a agitación vigorosa. A temperaturas mayores ocurre la oligomerización del producto. Las fases se separaron; la fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 100 ml), y los extractos orgánicos combinados se lavaron con NH<sub>4</sub>Cl ac. sat. hasta pH<7 (5 x 50 ml, retirando cuidadosamente todo el producto N,O-dimetilhidroxilamina), se lavaron después con salmuera (100 ml), se secaron con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, y se concentraron al vacío >80 mbar (teniendo cuidado de no evaporar el producto volátil).  
15 Rendimiento 11,8 g de aceite de color amarillo que contenía vinilciclohexilcetona pura. Se usó en la siguiente reacción sin purificación como 0,05 mol. RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 6,41 (dd, 1 H, 17,5 Hz, 10,3 Hz, Z-H-CH=C), 6,25 (dd, 1 H, 17,5 Hz, 1,4 Hz, E-H-CH=C), 5,74 (dd, 1 H, 10,3 Hz, MHz, CO-CH=C), 2,60 (m, 1 H, ciclohexil CH-CO), 1,9-1,7 (m, 3 H, ciclohexilo), 1,7-1,5 (m, 2 H, ciclohexilo), 1,4-1,2 (m, 5 H, ciclohexilo).

### 20 Intermedio 1.4

#### *1-(3-ciclohexil-3-oxopropil)-5-oxo-D-prolinato de bencilo*

25 En un matraz de fondo redondo de 1 l lavado con nitrógeno, secado a la llama, con agitador magnético, se disolvió clorhidrato de D-dibencil glutamato (H-D-Glu(OBn)-OBn) (0,04 mol, 14,6 g) en 1-propanol anhidro (0,5 l). A la solución resultante enfriada mediante un baño de hielo, se le añadió trietilamina (0,15 mol, 21 ml) con agitación en atmósfera de nitrógeno. La mezcla se agitó durante 10 min seguido de la adición de vinilciclohexilcetona recién preparada (0,05 mol). La mezcla de reacción se agitó en atmósfera de nitrógeno a 0-5°C durante 3 h hasta que la reacción hubo terminado (Control por CL-EM y RMN de alícuotas concentradas).

30 Cuando la reacción hubo terminado, se retiró la refrigeración, el condensador de reflujo se unió al matraz, y la mezcla se calentó a reflujo durante una noche en un baño de aceite. La solución de color amarillo se concentró, se diluyó con una mezcla de cloroformo-hexanos (1:1 v/v, 100 ml), y se filtró a partir de agujas blancas de Et<sub>3</sub>NHCl. El filtrado se concentró de nuevo dando 26,1 g de un aceite de color amarillo claro. La purificación sobre 200 g de gel de sílice, eluyente hexanos-EtOAc de 100:0 a 0:100, dio 8,85 g (62%) de 1-(3-ciclohexil-3-oxopropil)-5-oxo-D-prolinato de bencilo puro en forma de un aceite transparente. R<sub>f</sub> 0,30 (hexanos-EtOAc 1:4). RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,36 (m, 5 H, Ph), 5,19 (d, 1 H, 12,0 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 5,15 (d, 1 H, 12,0 Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 4,33 (m, 1 H, CH-COObn), 4,11 (m, 1 H, ciclohexil CH-CO), 3,62 (m, 1 H, CH<sub>2</sub>-N), 3,37 (m, 1 H, CH<sub>2</sub>-N), 2,89 (m, 1 H, cadena CH<sub>2</sub>-CO), 2,66 (m, 1 H, cadena CH<sub>2</sub>-CO), 2,43 (m, 1 H, anillo de lactama CH<sub>2</sub>-CO), 2,30 (m, 1 H, anillo de lactama CH<sub>2</sub>-CO), 2,27 (m, 1 H, anillo de lactama H3) 2,02 (m, 1 H, anillo de lactama H3), 1,85-1,55 (m, 5 H, ciclohexilo), 1,30-1,15 (m, 5 H, ciclohexilo). RMN de <sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 211,9 (CO-C<sub>6</sub>H<sub>11</sub>), 175,0 (-CO-N), 171,7 (COObn), 135,0 (ipso-C Ph), 128,5, 128,2 (o-C, m-C Ph), 128,4 (p-C Ph), 67,5 (OCH<sub>2</sub>-Ph), 61,7 (CH-COObn), 51,2 (ciclohexil CH-CO), 39,2 (cadena CH<sub>2</sub>CO), 38,2 (CH<sub>2</sub>-N), 30,1 (anillo de lactama CH<sub>2</sub>-CO), 29,0, 26,5, 26,3 (ciclohexilo), 24,1 (anillo de lactama C3).

### 45 Intermedios 1.5 y 1.6

#### *1-[(3R)-3-ciclohexil-3-hidroxiopropil]-5-oxo-D-prolinato de bencilo*

y

#### 50 *1-[(3S)-3-ciclohexil-3-hidroxiopropil]-5-oxo-D-prolinato de bencilo*

55 A la solución en agitación de 1-(3-ciclohexil-3-oxopropil)-5-oxo-D-prolinato de bencilo (24,5 mmol, 8,80 g) en 100 ml de MeOH y 20 ml de H<sub>2</sub>O a 0°C se le añadió cloruro de cerio (III) heptahidrato (25 mmol, 9,32 g). A la solución resultante se le añadió rápidamente borohidruro sódico (25 mmol, 0,95 g) en pequeñas porciones y la mezcla se agitó a 0°C. Después de 15 min. la reacción se detuvo mediante la adición de unos pocos ml de acetona y se concentró al vacío dando 8,98 g de aceite bruto que contenía una mezcla de los 2 diaestereoisómeros. La mezcla se separó sobre 300 g de gel de sílice, eluyente hexanos-EtOAc de 100:0 a 0:100, dando:

60 *Intermedio 1.5* (1,87 g, 21%), aceite transparente, R<sub>f</sub> = 0,32 (EtOAc). RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,35 (m, 5 H, Ph), 5,20 (d, 1 H, 12,0 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 5,18 (d, 1 H, 12,0 Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 4,20 (m, 1 H, CH-COObn), 3,94 (m, 1 H, CH<sub>2</sub>-N), 3,13 (m, 1 H, CH-OH), 2,93 (m, 1 H, CH<sub>2</sub>-N), 2,51 (m, 1 H, anillo de lactama CH<sub>2</sub>-CO), 2,40 (m, 1 H, anillo de lactama CH<sub>2</sub>-CO), 2,33 (m, 1 H, anillo de lactama H3) 2,09 (m, 1 H, anillo de lactama H3), 1,85 (m, 1 H, ciclohexilo), 1,76-1,55 (m, 4 H, ciclohexilo), 1,58 (m, 1 H, CH<sub>2</sub>-CHOH), 1,44 (m, 1 H, CH<sub>2</sub>-CHOH), 1,29 (m, 1 H, ciclohexil CH-CO), 1,30-0,9 (m, 5 H, ciclohexilo). RMN de <sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 175,9 (-CO-N), 171,1 (COObn), 134,8 (ipso-C Ph), 128,6, 128,2 (o-C, m-C, p-C Ph), 72,1 (CH-OH), 67,7 (OCH<sub>2</sub>-Ph), 60,1 (CH-COObn), 44,0 (ciclohexil CH-CHOH), 39,2 (CH<sub>2</sub>-N), 32,0 (CH<sub>2</sub>CHOH), 30,0 (anillo de lactama CH<sub>2</sub>-CO), 29,8, 29,2, 27,2, 27,0, 26,9 (ciclohexilo), 23,7 (anillo de lactama C3).

## ES 2 336 933 T3

Intermedio 1.6 (2,13 g, 24%) se obtuvo en forma de un aceite transparente,  $R_f = 0,25$  (EtOAc); RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7,33 (m, 5 H, Ph), 5,18 (d, 1 H, 12,0 Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 5,11 (d, 1 H, 12,0 Hz,  $\text{OCH}_2\text{Ph}$ ), 4,16 (m, 1 H,  $\text{CH-COOBn}$ ), 3,58 (m, 1 H,  $\text{CH}_2\text{-N}$ ), 2,29 (m, 1 H,  $\text{CH}_2\text{-N}$ ), 3,23 (m, 1 H,  $\text{CH-OH}$ ), 2,54 (m, 1 H, anillo de lactama  $\text{CH}_2\text{-CO}$ ), 2,34 (m, 1 H, anillo de lactama  $\text{CH}_2\text{-CO}$ ), 2,29 (m, 1 H, anillo de lactama H3) 2,04 (m, 1 H, anillo de lactama H3), 1,8 (t a, 1 H, ciclohexilo), 1,72-1,5 (m, 4 H, ciclohexilo), 1,56 (m, 1 H,  $\text{CH}_2\text{-CHOH}$ ), 1,36 (m, 1 H,  $\text{CH}_2\text{-CHOH}$ ), 1,25 (m, 1 H, ciclohexil  $\text{CH-CO}$ ), 1,25-0,9 (m, 5 H, ciclohexilo). RMN de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  176,2 ( $-\text{CO-N}$ ), 171,6 ( $\text{COOBn}$ ), 134,8 (ipso-C Ph), 128,6,128,2 (o-C, m-C, p-C Ph), 72,4 ( $\text{CH-OH}$ ), 67,7 ( $\text{OCH}_2\text{-Ph}$ ), 60,1 ( $\text{CH-COOBn}$ ), 44,0 (ciclohexil  $\text{CH-CHOH}$ ), 41,1 ( $\text{CH}_2\text{-N}$ ), 32,7 ( $\text{CH}_2\text{CHOH}$ ), 30,2 (anillo de lactama  $\text{CH}_2\text{-CO}$ ), 29,7, 29,0, 27,2, 27,0, 26,9 (ciclohexilo), 24,2 (anillo de lactama C3).

### Intermedio 1.7

#### *1-((3R)-3-[[terc-butil(dimetil)silil]oxi]-3-ciclohexilpropil)-5-oxo-D-prolinato de bencilo*

A la solución en agitación del intermedio 1.5 (5,6 mmol, 2,00 g) en 20 ml de DMF anhidra, enfriada a  $0^\circ\text{C}$ , se le añadió trietilamina (20 mmol, 2,8 ml) mediante una jeringa en atmósfera de nitrógeno seguido de *terc*-butildimetilsililtri-fluorometanosulfonato (8,4 mmol, 1,46 ml). La solución se agitó durante una noche, se concentró al vacío, se diluyó con 100 ml de agua, se extrajo con EtOAc (3 x 20 ml), los extractos se secaron sobre  $\text{MgSO}_4$ , y se concentraron dando 2,65 g (100%) del compuesto del título en forma de un aceite transparente que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

### Intermedio 1.8

#### *(5R)-1-((3R)-3-[[terc-butil(dimetil)silil]oxi]-3-ciclohexilpropil)-5-(hidroximetil)pirrolidin-2-ona*

A la solución en agitación del intermedio 1.7 (5,6 mmol, 2,65 g) en MeOH (200 ml) se le añadió borohidruro sódico (7,1 mmol, 270 mg) en tres porciones durante 8 h y la mezcla de reacción se agitó durante una noche, después se concentró al vacío. La purificación sobre 200 g de gel de sílice, eluyente hexanos-EtOAc de 80:20 a 0:100 dio como resultado 0,79 g (39%, o 44% sobre el éster que ha reaccionado) del producto del título en forma de un sólido ceroso de color blanco.  $R_f$  0,20 (EtOAc); RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  3,78 (dd, 1 H, 1 MHz, 3,7 Hz,  $\text{CH}_2\text{OH}$ ), 3,70 (td a, 1 H, ~8 Hz, ~4 Hz,  $\text{CHCH}_2\text{OH}$ ), 3,65 (m, 1 H,  $\text{CH}_2\text{-N}$ ), 3,62 (dd, 1 H, 11,4 Hz, 3,3 Hz,  $\text{CH}_2\text{OH}$ ), 3,49 (quint a, ~4 Hz,  $\text{CH-OTBS}$ ), 3,03 (ddd, 1 H, 13,6 Hz, 11,0 Hz, 4,8 Hz,  $\text{CH}_2\text{-N}$ ), 2,46 (ddd, 1 H, 17 Hz, 10 Hz, 7,3 Hz, anillo de lactama  $\text{CH}_2\text{-CO}$ ), 2,31 (ddd, 1 H, 17 Hz, 10 Hz, 5,5 Hz, anillo de lactama  $\text{CH}_2\text{-CO}$ ), 2,08 (m, 1 H, anillo de lactama H3), 1,97 (m, 1 H, anillo de lactama H3), 1,8-1,6 (m, 5 H, ciclohexilo), 1,66 (m, 1 H,  $\text{CH}_2\text{-CHOTBS}$ ), 1,55 (m, 1 H,  $\text{CH}_2\text{-CHOTBS}$ ), 1,38 (tc a, 1 H, ~12 Hz, -4 Hz, ciclohexil  $\text{CH-CHOTBS}$ ), 1,2-0,9 (m, 5 H, ciclohexilo). RMN de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  175,1 ( $-\text{CO-N}$ ), 75,0 ( $\text{CH-OTBS}$ ), 63,0 ( $\text{CH}_2\text{OH}$ ), 59,2 ( $\text{CH-CH}_2\text{OH}$ ), 44,5 (ciclohexil  $\text{CH-CHOTBS}$ ), 38,7 ( $\text{CH}_2\text{-N}$ ), 31,2 (anillo de lactama  $\text{CH}_2\text{-CO}$ ), 31,0 ( $\text{CH}_2\text{-CHOTBS}$ ), 29,5, 28,4, 27,4, 27,2, 27,1 (ciclohexilo), 26,6 ( $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 21,9 (anillo de lactama C3), 18,9 ( $\text{Si-CMe}_3$ ), -3,5 ( $\text{Si-CH}_3$ ).

### Intermedio 1.9

#### *(2R)-1-((3R)-3-[[terc-butil(dimetil)silil]oxi]-3-ciclohexilpropil)-5-oxopirrolidin-2-carbaldehído*

En un matraz de 25 ml lavado con nitrógeno, secado, se añadió cloruro de oxalilo (0,36 mmol, 31  $\mu\text{l}$ ) en 5 ml de diclorometano a  $-78^\circ\text{C}$  en atmósfera de nitrógeno, seguido de DMSO (0,45 mmol, 35  $\mu\text{l}$ ). Después de 10 min, el intermedio 1.8 (0,28 mmol, 103 mg) en 2 ml de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  se añadió a través de un septo completando la transferencia con 2-3 ml de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . La mezcla se agitó a  $-78^\circ\text{C}$  durante 1,2 h, después se añadió trietilamina (1,40 mmol, 194  $\mu\text{l}$ ), y se agitó durante 15 min. El control por CCF de la reacción fue difícil debido a la formación de un sub-producto con  $R_f$  0,20, idéntico al del alcohol de partida. El baño de  $\text{CO}_2$ -acetona se sustituyó por un baño de hielo, la agitación continuó durante 5 min más, y la reacción se interrumpió con 10 ml de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  acuoso saturado. Las fases se separaron, la fase orgánica se lavó con salmuera (5 ml), se secó sobre  $\text{MgSO}_4$ , y se concentró dando 120 mg del compuesto del título en forma de un aceite transparente,  $R_f$  0,39 (EtOAc) que se usó sin purificación adicional en la siguiente etapa.

### Intermedio 1.10

#### *4-[3-[(2R)-1-((3R)-3-[[terc-butil(dimetil)silil]oxi]-3-ciclohexilpropil)-5-oxopirrolidin-2-il]prop-2-enil]benzoato de metilo*

A una suspensión agitada del intermedio 1.1 (1,12 mmol, 550 mg) en 10 ml de THF se le añadió gota a gota solución de *terc*-butóxido potásico (1 M en THF, 2,24 mmol, 2,24 ml) a  $0^\circ\text{C}$  en atmósfera de nitrógeno. Después de 15 min se añadió la solución del intermedio 1.9 (0,28 mmol) en 2 ml de THF, completando la transferencia con 3 ml más de THF. La mezcla se agitó a  $0^\circ\text{C}$  durante 4 h hasta que la reacción hubo terminado (control por CCF). Después se añadieron 20 ml de EtOAc, la reacción se enfrió mediante un baño de hielo, se acidificó con ácido clorhídrico acuoso (1 M, 2,24 mmol, 2,24 ml), y se agitó durante 15 min. En este punto la suspensión gris se convirtió en una solución de color amarillo con poco precipitado blanco. La fase orgánica se decantó, se lavó con EtOAc (10 ml), y se decantó de nuevo. La fase orgánica se secó sobre  $\text{MgSO}_4$  y se concentró.

## ES 2 336 933 T3

El ácido libre resultó ser difícil de separar del óxido de trifenilfosfina y otras impurezas, y la mezcla de reacción bruta se convirtió en éster de metilo para simplificar la separación (véase más adelante).

5 A una solución de la mezcla anterior en 10 ml de diclorometano y 5 ml de metanol se le añadió trimetilsilildiazo-  
metano (2 M en hexanos, 0,42 mmol, 0,24 ml) y se agitó durante una noche a ta. La reacción se concentró y se purificó  
sobre gel de sílice dando 61 mg (43% en 3 etapas) del compuesto del título en forma de un aceite transparente.

### Intermedio 1.11

10 *4-(3-((2S)-1-[(3R)-3-ciclohexil-3-hidroxi]propil)-5-oxopirrolidin-2-il)propil)benzoato de metilo*

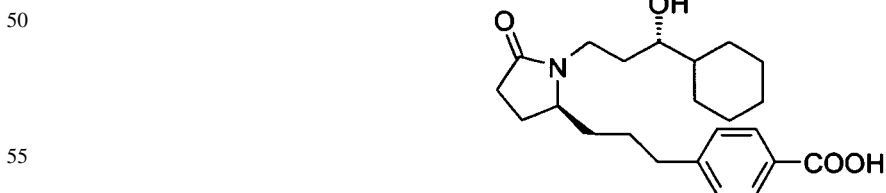
A una solución del intermedio 1.10 (0,12 mmol, 61 mg) en 7 ml de MeOH, se le añadió paladio sobre carbono  
activado (Pd al 10%, 0,019 mmol, 20 mg) y 1 gota (~0,05 ml) de ácido clorhídrico concentrado. La mezcla se agitó  
durante una noche bajo un globo lleno de H<sub>2</sub>. Después la mezcla se filtró del catalizador y se concentró dando 41 mg  
15 de un aceite transparente. La purificación sobre 4 g de gel de sílice, eluyente hexanos-EtOAc de 90:10 a 0:100 dio 32,4  
mg (66%) del compuesto del título en forma de un aceite transparente. RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,95 (d, 2 H,  
8,0 Hz, o-H Ar), 7,22 (d, 2 H, 8,0 Hz, m-H Ar), 3,88 (s, 3 H, COOMe), 3,85 (ddd, 1 H, 14,3 Hz, 11,7 Hz, 5,6 Hz, N-  
CH<sub>2</sub>), 3,51 (dm, 1 H, ~8 Hz, anillo de lactama CH-CH<sub>2</sub>), 3,05 (ddd, 1 H, 11,0 Hz, 5,8 Hz, 2,2 Hz, CHOH), 2,88 (ddd,  
1 H, 14,3 Hz, 4,8 Hz, 3,6 Hz, N-CH<sub>2</sub>), 2,69 (m, 2 H, CH<sub>2</sub>-Ar), 2,36 (m, 2 H, anillo de lactama CH<sub>2</sub>-CO), 2,12 (m, 1  
20 H, anillo de lactama H3), 1,85 (d a, 1 H, 12 Hz ciclohexilo), 1,75-1,50 (m, 8 H, ciclohexilo, alquilo), 1,37 (m, 1 H,  
ciclohexil CH-CHOH), 1,3-0,9 (m, 8 H, ciclohexilo, alquilo). RMN de <sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 175,6 (CO-N), 166,6  
(COOMe), 146,8 (Cl Ar), 129,7,128,2 (o-C, m-C Ar), 127,9 (p-C Ar), 71,7 (CHOH), 57,2 (anillo de lactama N-CH),  
52,5 (OCH<sub>3</sub>), 43,9 (ciclohexil CH-CHOH), 36,8 (CH<sub>2</sub>-N), 36,3 (CH<sub>2</sub>Ar), 32,7 (N-CH-CH<sub>2</sub>), 31,8 (CH<sub>2</sub>-CHOH), 30,6  
25 (anillo de lactama CH<sub>2</sub>-CO), 29,9, 29,4, 27,2, 27,0, 26,9 (ciclohexilo), 26,6 (CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-Ar), 24,8 (anillo de lactama  
C3).

### Ácido 4-(3-(2S)-1-[(3R)-3-ciclohexil-3-hidroxi]propil)-5-oxotetrahidro-1H-2-pirrolilpropil)benzoico (Ejemplo 1)

A una solución del intermedio 1.11 (0,080 mmol, 32,4 mg) en 2 ml de MeOH y 1 ml de H<sub>2</sub>O se le añadió una  
30 solución de NaOH (10 M en H<sub>2</sub>O, 0,80 mmol, 80 μl), y la solución se agitó durante una noche. La CCF mostró  
el consumo total del éster. La reacción se concentró al vacío, se diluyó con 5 ml de agua, y se acidificó con ácido  
clorhídrico (1 M en H<sub>2</sub>O, 0,80 mmol, 0,80 ml) - se observó una precipitación sólida oleosa blanca. La mezcla se  
extrajo con EtOAc (3 x 3 ml), se secó con MgSO<sub>4</sub>, se filtró, y se concentró dando 31 mg (100%) del compuesto del  
título en forma de un sólido ceroso de color blanco. La sal de Na del ácido se preparó por valoración de la solución del  
35 producto en 1 ml de MeOH, diluido con 1 ml de H<sub>2</sub>O, con solución 1 M de NaOH (90 μl) a agitación intensiva hasta  
que los sólidos se disolvieron. La solución resultante se liofilizó durante 2 días dando 33 mg (100%) del sólido blanco  
a granel. RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD, sal de Na) δ 7,86 (d, 2 H, 8,0 Hz, o-H Ar), 7,19 (d, 2 H, 8,0 Hz, m-H Ar),  
3,75 (m, 1 H, N-CH<sub>2</sub>), 3,55 (m, 1 H, anillo de lactama CH-CH<sub>2</sub>), 3,12 (m, 2 H, CHOH, N-CH<sub>2</sub>), 2,70 (m, 2 H, CH<sub>2</sub>-  
40 Ar), 2,33 (m, 2 H, anillo de lactama CH<sub>2</sub>-CO), 2,12 (m, 1 H, anillo de lactama H3), 1,85-1,55 (m, 9 H, ciclohexilo,  
alquilo), 1,50-0,9 (m, 9 H, ciclohexilo, alquilo). EM (m/z): 388 (M+H<sup>+</sup>).

### Ejemplo 2

45 *Síntesis de ácido 4-(3-(2S)-1-[(3S)-3-ciclohexil-3-hidroxi]propil)-5-oxotetrahidro-1H-2-pirrolilpropil)benzoico*



60 Intermedio 2.1

### 1-((3S)-3-[[*tert*-butil(dimetil)silil]oxi]-3-ciclohexilpropil)-5-oxo-D-prolinato de bencilo

65 El isómero 3S se obtuvo de acuerdo con el procedimiento del intermedio 1.7 a partir del intermedio 1.6 (5,9 mmol,  
2,13 g) dando como resultado 2,80 g (100%) de aceite transparente que se usó sin purificación.

## ES 2 336 933 T3

### Intermedio 2.2

#### *(5R)-1-((3S)-3-[[terc-butil(dimetil)silil]oxi]-3-ciclohexilpropil)-5-(hidroximetil)pirrolidin-2-ona*

5 El isómero 3S se preparó de acuerdo con el procedimiento del intermedio 1.8 a partir del intermedio 2.1 (5,9 mmol, 2,80 g) dando como resultado 0,93 g (43%, o 50% sobre el éster que ha reaccionado),  $R_f$  0,18 (EtOAc). RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  3,77 (dd, 1 H, 11,0 Hz, 3,7 Hz,  $\text{CH}_2\text{OH}$ ), 3,67 (m, 1 H,  $\text{CHCH}_2\text{OH}$ ), 3,64 (dd, 1 H, 11,4 Hz, 3,7 Hz,  $\text{CH}_2\text{OH}$ ), 3,55 (ddd, 13,6 Hz, 11,4 Hz, 5,5 Hz, 1 H,  $\text{CH}_2\text{-N}$ ), 3,47 (dt, 6,6 Hz, 4,8 Hz,  $\text{CH-OTBS}$ ), 3,03 (ddd, 1 H, 13,6 Hz, 11,0 Hz, 4,8 Hz,  $\text{CH}_2\text{-N}$ ), 2,46 (ddd, 1 H, 17 Hz, 9,9 Hz, 7,0 Hz, anillo de lactama  $\text{CH}_2\text{-CO}$ ), 2,31 (ddd, 1 H, 17 Hz, 10 Hz, 5,5 Hz, anillo de lactama  $\text{CH}_2\text{-CO}$ ), 2,10 (m, 1 H, anillo de lactama H3) 1,93 (m, 1 H, anillo de lactama H3), 1,73-1,55 (m, 7 H, ciclohexilo,  $\text{CH}_2\text{-CHOTBS}$ ), 1,39 (tm, 1 H,  $\sim$ 11 Hz, ciclohexil  $\text{CH-CHOTBS}$ ), 1,2-0,9 (m, 5 H, ciclohexilo). RMN de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  175,2 ( $\text{-CO-N}$ ), 74,9 ( $\text{CH-OTBS}$ ), 63,1 ( $\text{CH}_2\text{OH}$ ), 59,9 ( $\text{CH-CH}_2\text{OH}$ ), 43,3 (ciclohexil  $\text{CH-CHOTBS}$ ), 38,2 ( $\text{CH}_2\text{-N}$ ), 31,8 ( $\text{CH}_2\text{CHOTBS}$ ), 31,1 (anillo de lactama  $\text{CH}_2\text{-CO}$ ), 29,3, 29,1, 27,3, 27,1, 27,1 (ciclohexilo), 26,6 ( $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 21,9 (anillo de lactama C3), 18,8 ( $\text{Si-CMe}_3$ ), -3,3, -3,5 ( $\text{Si-CH}_3$ ). EM (m/z): 392 ( $\text{M}+\text{Na}^+$ ).

### Intermedio 2.3

#### *(2R)-1-((3S)-3-[[terc-butil(dimetil)silil]oxi]-3-ciclohexilpropil)-5-oxopirrolidin-2-carbaldehído*

20 El isómero 3S se preparó de acuerdo con el procedimiento del intermedio 1.9 a partir del intermedio 2.2 (0,30 mmol, 125 mg) con un rendimiento bruto cuantitativo en forma de un aceite transparente,  $R_f$  0,43 (EtOAc), que era puro por CCF (a diferencia del isómero 3R) y se usó en la siguiente etapa sin purificación.

### Intermedio 2.4

#### *4-{3-[(2R)-1-((3S)-3-[[terc-butil(dimetil)silil]oxi]-3-ciclohexilpropil)-5-oxopirrolidin-2-il]prop-2-enil}benzoato de metilo*

30 El isómero 3S se preparó de acuerdo con el procedimiento del intermedio 1.10 a partir del intermedio 2.3 (0, mmol) produciendo 87,1 mg (51% en 3 etapas) del producto.

### Intermedio 2.5

#### *4-(3-[(2R)-1-((3S)-3-ciclohexil-3-hidroxi)propil]-5-oxopirrolidin-2-il]propil)benzoato de metilo*

35 El isómero 3S se preparó de acuerdo con el procedimiento del intermedio 1.11 a partir del intermedio 2.4 (0,17 mmol, 87 mg) dando 53,7 mg (79%) del producto. RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7,93 (d, 2 H, 8,0 Hz, o-H Ar), 7,20 (d, 2 H, 8,0 Hz, m-H Ar), 3,87 (s, 3 H, COOMe), 3,59 (m, 1 H, N- $\text{CH}_2$ ), 3,54 (m, 1 H, anillo de lactama N- $\text{CH-CH}_2$ ), 3,18 (ddd, 1 H, 10,6 Hz, 6,2 Hz, 2,6 Hz,  $\text{CHOH}$ ), 2,88 (ddd, 1 H, 14 Hz, 5 Hz, 4 Hz, N- $\text{CH}_2$ ), 2,68 (m, 2 H,  $\text{CH}_2\text{-Ar}$ ), 2,37 (m, 1 H, anillo de lactama  $\text{CH}_2\text{-CO}$ ), 2,30 (m, 1 H, anillo de lactama  $\text{CH}_2\text{-CO}$ ), 2,13 (m, 1 H, anillo de lactama H3), 1,85-0,9 (m, 18 H, ciclohexilo, alquilo). RMN de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  176,2 ( $\text{CO-N}$ ), 166,5 (COOMe), 146,8 (Cl Ar), 129,6, 128,2 (o-C, m-C Ar), 127,9 (p-C Ar), 72,3 ( $\text{CHOH}$ ), 60,9 (anillo de lactama N- $\text{CH}$ ), 52,5 ( $\text{OCH}_3$ ), 44,0 (ciclohexil  $\text{CH-CHOH}$ ), 39,8 ( $\text{CH}_2\text{-N}$ ), 36,4 ( $\text{CH}_2\text{Ar}$ ), 34,7 (N- $\text{CH-CH}_2$ ), 34,1 ( $\text{CH}_2\text{-CHOH}$ ), 30,9 (anillo de lactama  $\text{CH}_2\text{-CO}$ ), 29,8, 29,3, 27,2, 27,0, 26,9 (ciclohexilo), 26,8 ( $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-Ar}$ ), 25,2 (anillo de lactama C3).

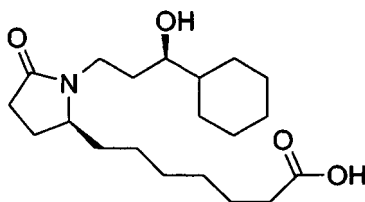
#### *Ácido 4-(3-[(2S)-1-((3S)-3-ciclohexil-3-hidroxi)propil]-5-oxopirrolidin-2-il]propil)benzoico (Ejemplo 2)*

50 El isómero 3S se preparó de acuerdo con el procedimiento del intermedio 1.11 a partir del intermedio 2.5. El ácido bruto se purificó sobre 0,8 g gel de sílice, eluyente EtOAc-MeOH de 100:0 a 60:40 produciendo 35,2 mg (68%) de ácido puro. La preparación posterior de la sal de Na dio como resultado 34,9 mg (94%) de un sólido blanco. RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8,01 (d, 2 H, 8,4 Hz, o-H Ar), 7,27 (d, 2 H, 8,0 Hz, m-H Ar), 3,88 (m, 1 H, N- $\text{CH}_2$ ), 3,54 (m, 1 H, anillo de lactama  $\text{CH-CH}_2$ ), 3,06 (m, 1 H,  $\text{CHOH}$ ), 2,90 (m, 1 H, N- $\text{CH}_2$ ), 2,73 (m, 2 H,  $\text{CH}_2\text{-Ar}$ ), 2,38 (m, 2 H, anillo de lactama  $\text{CH}_2\text{-CO}$ ), 2,13 (m, 1 H, anillo de lactama H3), 1,85 (d a, 1 H, 12 Hz ciclohexilo), 1,80-1,55 (m, 8 H, ciclohexilo, alquilo), 1,45-0,9 (m, 9 H, ciclohexilo, alquilo). EM (m/z): 388 ( $\text{M}+\text{H}^+$ , 45).

### Ejemplo 3

#### *Síntesis de ácido 7-[(2S)-1-[(3R)-3-ciclohexil-3-hidroxi)propil]-5-oxopirrolidin-2-il]heptanoico*

60



## ES 2 336 933 T3

### Intermedio 3.1

#### *Bromuro de 6-carboxihexil(trifenil)fosfonio*

5 Una solución de ácido 6-bromohexanoico (18 mmol, 3,50 g) y trifenilfosfina (18 mmol, 4,71 g) en acetonitrilo (18 ml) se calentó a reflujo durante 18 h. La mezcla de reacción después se enfrió, y el sólido blanquecino formado se filtró. La cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (EtOAc, después MeOH) dio el producto en forma de un sólido blanco (1,08 g, 86%).

#### 10 *Ácido 7-[(2S)-1-[(3R)-3-ciclohexil-3-hidroxipropil]-5-oxopirrolidin-2-il]heptanoico (Ejemplo 3)*

El compuesto se preparó a partir del Intermedio 3.1 y el Intermedio 1.9 de acuerdo con el procedimiento para el Ejemplo 1. RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD, sal de Na) δ 3,6 - 3,75 (m, 2 H), 3,20 - 3,30 (m, 1 H), 3,05 - 3,15 (m, 1 H), 2,20 - 2,40 (m, 4 H), 2,10 - 2,20 (m, 1 H), 1,55 - 1,90 (m, 10 H), 0,90 - 1,45 (m, 14 H). EM (m/z): 354,1 (M+H<sup>+</sup>).

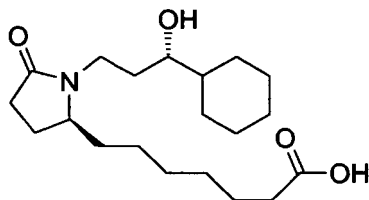
15

### Ejemplo 4

#### 20 *Síntesis de ácido 7-[(2S)-1-[(3R)-3-ciclohexil-3-hidroxipropil]-5-oxopirrolidin-2-il]heptanoico*

20

25



30 El compuesto se obtuvo a partir del Intermedio 3.1 y el Intermedio 2.3 de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 2. RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD, sal de Na) δ 3,65 - 3,75 (m, 1 H), 3,45 - 3,55 (m, 1 H) 3,10 - 3,30 (m, 2 H), 2,20 - 2,40 (m, 4 H), 2,10-2,20 (m, 1 H), 1,55-1,90 (m, 10 H), 0,90-1,45 (m, 14 H). EM (m/z): 354,1 (M+H<sup>+</sup>).

### 35 Ejemplo 5

#### *Ensayos Para Determinar la Actividad Biológica de los Compuestos de la Invención*

40 Los compuestos de la presente invención pueden ensayarse usando diversos ensayos biológicos para determinar la actividad prostanoide agonista (o incluso antagonista) *in vitro* e *in vivo* y para evaluar la selectividad de los compuestos con respecto a un receptor prostanoide dado. Los compuestos de la presente invención preferiblemente son específicos para el receptor DP<sub>1</sub>. Tanto el receptor DP<sub>1</sub> como el DP<sub>2</sub> los conocen bien los especialistas en la técnica y se han descrito por ejemplo, en la Patente de Estados Unidos N° 6.395.499; Hawcroft *et al.*, (Cancer Lett. 2004 Jul 8; 210 (1): 81-4, que describe la expresión de los receptores DP<sub>1</sub> y DP<sub>2</sub> de prostaglandina D2 mediante células de cáncer colorrectal humanas); Hammad *et al.*, (J. Immunol. 2003 Oct 15; 171 (8): 3936-40; que describe la activación mediante prostaglandina D2 del receptor DP<sub>1</sub> en la migración y función de las células dendríticas de las vías respiratorias); Monneret *et al.*, (Blood. 2001 Sep 15; 98 (6): 1942-8), que describe receptores DP<sub>2</sub> en eosinófilos humanos). Otros receptores de prostaglandinas que pueden usarse para ensayar la actividad de los presentes compuestos incluyen EP<sub>1</sub>, EP<sub>2</sub>, EP<sub>3</sub>, EP<sub>4</sub>, FP, IP y TP.

50

#### *5.1 Expresión Estable de Receptores Prostanoides en Líneas Celulares*

55 Los ADNc del receptor prostanoide que corresponden a secuencias de codificación de longitud completa los conocen bien los especialistas en la técnica y pueden subclonarse en los sitios apropiados de vectores de expresión de mamíferos y transfectarse en cualquier célula huésped usada habitualmente para una transfección estable. Dichas células incluyen, por ejemplo, células VERO, células HeLa, líneas celulares de ovario de hámster chino (CHO), células COS (tal como COS-7), W138, BHK, HepG2, 3T3, RIN, MDCK, A549, PC12, K562 y células HEK 293. Una línea celular preferida para usar en dichas realizaciones son las células de riñón embrionario humanas (HEK-293) que se han transfectado con y expresan la proteína EBNA-1. Tras la transfección, las células HEK 293 (ebna) que expresan los ADNc individuales se desarrollan según selección y se aíslan colonias individuales después de 2-3 semanas de cultivo usando el procedimiento de anillo de clonación y posteriormente se expanden en líneas celulares clonales.

60

#### *5.2 Ensayos de Unión al Receptor Prostanoide*

65 Las células HEK 293 (ebna) u otras células transfectadas de forma estable con el receptor apropiado se mantienen en el cultivo, se recogen y se preparan membranas por centrifugación diferencial, siguiendo la lisis de las células en presencia de inhibidores de proteasa, para usar en los ensayos de unión al receptor.

## ES 2 336 933 T3

Los ensayos de unión al receptor prostanoides se realizan en MES/KOH 10 mM (pH 6,0) (EP, FP y TP) o HEPES/KOH 10 mM (pH 7,4) (DP y IP), que contenía EDTA 1 mM, catión divalente 10 mM y el radioligando apropiado para el receptor dado. La reacción se inicia mediante la adición de proteína de membrana. Típicamente, los ligandos se añaden en un disolvente tal como dimetilsulfóxido que se mantiene constante al 1% (v/v) en todas las incubaciones. La unión no específica se determina en presencia de 1  $\mu$ M del prostanoides no radiactivo correspondiente. Las incubaciones se realizan durante 60 min a temperatura ambiente o 30°C y se terminan por filtración rápida. La unión específica se calcula restando la unión no específica de la unión total. La unión específica residual a cada concentración de ligando se calcula y expresa como una función de la concentración de ligando para construir curvas sigmoideas de concentración-respuesta para la determinación de la afinidad por el ligando.

En otro protocolo, los compuestos de la invención se ensayan en un ensayo de unión al receptor DP<sub>1</sub> con el siguiente protocolo. Una mezcla que contenía 20  $\mu$ g de membranas del receptor DP<sub>1</sub>, 0,5 mg de perlas de PVT-SPA revestidas con aglutinina de germen de trigo, más o menos un compuesto de ensayo de la invención (25  $\mu$ l por pocillo) o 10  $\mu$ M de PGE<sub>2</sub> fría en DMSO al 1% y ligando radiomarcado 20 nM para el receptor (por ejemplo, PGE<sub>2</sub> tritiada) en tampón de ensayo que contenía MES 25 mM, MgCl<sub>2</sub> 10 mM, EDTA 1 mM, pH 6,0 se incubaba en placas Corning 3600 en un agitador de placas durante 2 horas a temperatura ambiente. La unión del ligando radiomarcado se evalúa contando las placas en el contador superior usando el programa 3H SPA dpm2. El % de unión y el valor de K<sub>i</sub> para los inhibidores se calculan basándose en el parámetro de competición por un sitio usando el programa prisma Graphpad®. Dicho ensayo puede modificarse empleando los diferentes receptores y sus ligandos específicos para evaluar la actividad de los compuestos de la presente invención contra dichos receptores. Usando dicho ensayo, se calcularon los valores de K<sub>i</sub> de DP<sub>1</sub> para numerosos compuestos ejemplares de la presente invención y se muestran en la Tabla 1. Como puede observarse en la siguiente Tabla, una comparación de los valores de K<sub>i</sub> contra DP<sub>1</sub> comparado con los valores de K<sub>i</sub> de estos compuestos contra DP<sub>2</sub>, muestra que los agonistas ejemplares de la presente invención son específicos para DP<sub>1</sub> comparado con estos otros receptores de prostaglandinas (valores de K<sub>i</sub> para h-EP<sub>2</sub>, h-EP<sub>3</sub> y h-EP<sub>4</sub> de > 10000 nM).

TABLA 1

*Inhibición de DP<sub>1</sub>*

Nº de Ejemplo	h-DP <sub>1</sub> K <sub>i</sub> (nM)	h-DP <sub>1</sub> CE <sub>50</sub> (nM)	h-DP <sub>2</sub> K <sub>i</sub> (nM) n = 2
<b>PGD2</b>	4,1	0,3	
<b>BW245C</b>		0,031	
<b>1</b>	2,4	0,00072	> 10000
<b>2</b>	10,5	0,71	> 10000
<b>3</b>	1,8	0,037	> 10000
<b>4</b>	47,2	1,38	> 10000

### 5.3 Ensayos de segundo mensajero con células enteras

Los ensayos de segundo mensajero con células enteras para medir la estimulación (EP<sub>2</sub>, EP<sub>4</sub>, DP<sub>1</sub>, DP<sub>2</sub> e IP en células HEK 293 (ebna)) o la inhibición (EP<sub>3</sub> en células de eritroleucemia humanas (HEL)) de acumulación de AMPc intracelular o movilización de calcio intracelular (EP<sub>1</sub>, FP y TP en células HEK 293 (ebna) transfectadas de forma estable con apo-aequorina) se realizan para determinar si los ligandos del receptor son agonistas o antagonistas. Para el ensayo con AMPc, las células se recogen y se resuspenden en HBSS que contenía HEPES 25 mM, pH 7,4. Las incubaciones contienen RO-20174 100  $\mu$ M (inhibidor de fosfodiesterasa de tipo IV, disponible en Biomol) y, en el caso del ensayo de inhibición de EP<sub>3</sub> únicamente, forskolina 15  $\mu$ M para estimular la producción de AMPc.

Las muestras se incuban a 37°C durante 10 min, la reacción se termina y entonces se miden los niveles de AMPc. Para los ensayos de movilización de calcio, las células se cargan con los co-factores reducidos glutatión y coelenterazina, se recogen y se resuspenden en medio F12 de Ham. La movilización de calcio se mide controlando la luminiscencia provocada por la unión de calcio a la fotoproteína aequorina intracelular. Los ligandos se añaden en dimetilsulfóxido, que se mantiene constante al 1% (v/v) en todas las incubaciones.

Para los agonistas, las respuestas del segundo mensajero se expresan como una función de la concentración de ligando y tanto los valores de CE<sub>50</sub> como la respuesta máxima se comparan con un patrón prostanoides. Para los antagonistas, la capacidad de un ligando para inhibir la respuesta de un agonista se determina por análisis de Schild y se calculan los valores de KB y de la pendiente.

En otros protocolos ejemplares, las células HEK293-EBNA transfectadas con los receptores apropiados se siembran en una placa opaca de 96 pocillos (Costar N° 3917) a 4 x 10<sup>4</sup> células por pocillo en 100  $\mu$ l de medio de cultivo

## ES 2 336 933 T3

(D-MEM/F12 complementado con FBS al 10%, L-glutamina 2 nM, y 250 µg/ml de higromicina; todos de GibcoBRL) y se incubaron a 37°C. Después de una noche de incubación, el medio se retiró de cada pocillo y se sustituyó con 45 µl de medio de ensayo que consistía en D-MEM/F-12 sin rojo de fenol, BSA al 0,1% (GibcoBRL) y 3-isobutil-1-metil-xantina 0,1 mM (Sigma). Después de 15 minutos de incubación a 37°C, se añadieron 16-16-dimetil PGE-2 o compuestos a las concentraciones deseadas en 20 µl de medio de ensayo a las células y se incubaron adicionalmente a 37°C durante 1 hora. El AMPc total (intra- y extracelular) se midió usando un sistema ELISA con selección de AMPc (Tropix N° CS 1000).

### 5.4 Ensayo de ovulación *in vivo*

La actividad de desencadenamiento de la ovulación de los compuestos de la invención se ensaya en un modelo de inducción de la ovulación en ratón maduro. Se usan ratones CD maduros de 10 semanas de edad. Los reactivos se preparan de la siguiente manera: PMSG (gonadotropina de suero de yegua preñada) (Calbiochem, N° cat. 367222) y hCG (Serono) se diluyen en PBS. PGE2 (Cayman, Ann Arbor MI) se disuelve en etanol y se diluye con tampón NaHCO<sub>2</sub> 0,154 M (pH 8, 0) a una concentración final de etanol de menos del 3 por ciento. Un compuesto de ensayo (basado en solubilidad) se pre-disuelve en etanol, DMSO u otros reactivos. El compuesto de ensayo se diluye después con solución salina u otros diluyentes tales como PBS o NP3S (N-metil-pirrolidinona al 5%/PEG-400 al 30%/PEG-200 al 25%/Propilenglicol en solución salina al 20%). PMSG sirve para estimular el crecimiento y la maduración del folículo.

Los folículos maduros ovularán cuando se administre una dosis de desencadenamiento de la ovulación de hCG o un sustituto de hCG. El siguiente protocolo de ensayo se empleó para los animales de ensayo (típicamente 5 animales por grupo de ensayo).

Día 1: se inyectan 5 UI de PMSG en 200 UL de PBS (i.p. 15:00 PM)

Día 2: sin administración

Día 3: se inyecta una dosis de desencadenamiento de la ovulación de hCG (i.p.) o un sustituto de hCG (PGE2 o un compuesto de la invención, s.c, i.v. o vía oral), 15:00 PM

Día 4: dieciocho horas después de las inyecciones de desencadenamiento de la ovulación, los animales se sacrificaron por asfixia con CO<sub>2</sub> y las cavidades abdominales se abrieron usando tijeras finas y fórceps. El útero, los oviductos y los ovarios se recogieron y se pusieron en platillos pre-marcados que contenían solución salina tamponada con fosfato (PBS). Los tejidos recogidos se transfirieron al laboratorio y los oviductos intactos se diseccionaron cuidadosamente del útero y el ovario bajo el microscopio de disección. Los oviductos diseccionados se pusieron en un portaobjetos de vidrio para microscopio y se cubrieron con un cubreobjetos. Ambos se unieron con cinta en los dos bordes. Los números de óvulos ovulados en los oviductos se contaron usando un microscopio vertical con un objetivo de 4x y se registraron.

Para evaluar la actividad oral de este compuesto, se realizaron dos experimentos, el primer experimento se realizó con animales que no estaban en ayunas y el segundo experimento se realizó con animales que llevaban 24 h en ayunas (se les proporcionó agua). Los compuestos de la invención, de acuerdo con su solubilidad se pre-disuelven en etanol, DMSO u otros reactivos. Los compuestos de la invención después se diluyen con solución salina u otros diluyentes tales como PBS o NP3S antes de la administración oral.

Los compuestos de la invención pueden ensayarse en el modelo de inducción de la ovulación *in vivo* como se ha descrito anteriormente para evaluar la capacidad de estos compuestos para desencadenar la ovulación por las vías de administración subcutánea (sc), oral (po) e intravenosa (iv). Los grupos de ensayo pueden evaluarse de la siguiente manera:

Grupos	Cebado	Tratamientos
Grupo 1	5IU PMSG	Vehículo de Control
Grupo 2	5IU PMSG	HCG (0,12 mg/kg i. p. )
Grupo 3	5IU PMSG	PGE2 (13,5 mg/kg)
Grupo 4	5IU PMSG	Compuesto de ensayo (10 mg/kg)
Grupo 5	5IU PMSG	Compuesto de ensayo (30 mg/kg)
Grupo 6	5IU PMSG	Compuesto de ensayo (90 mg/kg)

Usando los grupos de ensayo indicados anteriormente, es posible determinar el número de óvulos obtenidos de cada grupo y, de esta manera, evaluar los efectos de los compuestos sobre la estimulación de la ovulación.

## ES 2 336 933 T3

Los agonistas de DP<sub>1</sub> se seleccionan usando los ensayos descritos anteriormente sobre la base de sus valores de Ki y/o CE<sub>50</sub>.

5 Los compuestos de la invención se ensayan después en el modelo de inducción de la ovulación *in vivo* como se ha descrito anteriormente para calcular la DE<sub>50</sub> para las vías de administración subcutánea (s.c.) y oral (po). Los datos pueden obtenerse también para compuestos de referencia (sulprostona y butaprost) que no satisfacen los criterios de selección para los agonistas de DP<sub>1</sub> para proporcionar una comparación de la actividad.

10 En realizaciones ejemplares, se evalúa la actividad oral en el modelo de inducción de la ovulación *in vivo* de otros compuestos de la invención a la dosis única de 20 mg/kg.

Es deseable que los compuestos de la invención sean capaces de estimular la inducción de la ovulación en ratones maduros en al menos una de las vías de administración. Preferiblemente, los compuestos son capaces de estimular la ovulación en las tres vías de administración (sc, iv, y po).

### 15 5.5. Inhibición *in vivo* de bronco-constricción en Cobayas

Generalmente se usa un modelo pulmonar-colinérgico *in vivo* para cobayas para ensayar los materiales para los tratamientos de asma en seres humanos (Fleisch *et al.* 1985, K. Pharmacol. Exp. Ther. 233: 148-157). Los compuestos de la invención se ensayan en este modelo.

20 Grupos de 3 cobayas macho o hembra, de la variedad Duncan Hartley, que pesaban 250±50 g se anestesian con pentobarbital sódico (50 mg/kg i.p., más 15 mg/kg adicionales i.p. si fuera necesario) y posteriormente se administra cloruro de succinilcolina (2 mg/animal i.p.) para evitar la respiración espontánea. La temperatura corporal se mantiene de 37°C a 38°C.

30 La tráquea se cánula y la cobaya se ventila con un respirador para roedores Harvard en un sistema cerrado. La presión traqueal se registra a través de un brazo móvil de la cánula conectado a un transductor P23ID Stafham. La frecuencia respiratoria se ajusta a 50 veces/minuto con un volumen cada una de (aproximadamente 1 ml/100 g) suficiente para producir una presión traqueal inicial de 6 cm de H<sub>2</sub>O. La presión arterial media (BP) se controla desde una arteria carótida canulada, y la frecuencia cardíaca (FC) se obtiene a partir de electrodos colocados en el pecho para plomo II. La vena yugular se cánula para la administración i.v. de vehículo o fármaco en un volumen de 1 ml/kg.

35 Las respuestas broncoconstrictoras por inducción colinérgica, reflejadas como aumentos en la presión traqueal (cm de H<sub>2</sub>O), se suscitan por administración de clorhidrato de metacolina (10 µg/kg peso base i.v.). En los animales de control tratados con vehículo, la broncoconstricción inducida por metacolina varía del 70 al 90 por ciento de su propia respuesta máxima (de aproximadamente el 40 al 65 por ciento de la broncoconstricción máxima posible obtenida por oclusión traqueal).

40 Los compuestos de la invención se ensayan también por la vía de administración intratraqueal (IT). En este otro experimento, un compuesto de ensayo de la invención, un compuesto de referencia o vehículo se administra IT 10 minutos (5 min para el experimento 1 y 2) antes de que el cloruro de metacolina (10 µg/kg i. v.) indujera la broncoconstricción. La presión traqueal (ITP), la presión sanguínea y la frecuencia cardíaca se miden inmediatamente como se indica en las secciones de materiales y procedimientos.

Se mide la DEM (dosis eficaz en el medio). Una inhibición del 50 por ciento o mayor (>50%) de la broncoconstricción inducida respecto a los animales de control tratados con el vehículo se considera significativa.

50 Los compuestos de la invención se administran por i.v. (10 mg/kg) 5 minutos antes de suministrar el estímulo de clorhidrato de metacolina en 3 cobayas. Una inhibición del 50 por ciento o mayor (>50) de la broncoconstricción inducida respecto a los animales de control tratados con el vehículo se considera significativa.

55 Los compuestos de ensayo de la invención se inyectan por i.v. a diferentes concentraciones desde 3 x 10<sup>5</sup> mg/kg hasta 0,3 mg/kg. A partir de dichos estudios, la concentración a la que se observan las inhibiciones de la broncoconstricción inducida por metacolina (>50%) puede calcularse fácilmente y puede determinarse la dosis eficaz *in vivo* (DE<sub>50</sub>). Preferiblemente, aunque no necesariamente, los compuestos no alteran la presión sanguínea o el ritmo cardíaco.

60 En estos modelos de estudio las dosis pueden variar. Por ejemplo, el compuesto puede ensayarse a 0,04, 0,4, 4,0 y 40 µg/cobaya. El material de referencia, por ejemplo, salbutamol (40 µg/animal) y el vehículo de control también pueden ensayarse.

65 Realizar los estudios anteriores demuestra la capacidad de los compuestos de la invención para producir la dilatación de los músculos bronquiales, que da como resultado la inhibición de la constricción broncomuscular inducida por metacolina.

## ES 2 336 933 T3

### 5.5. Inhibición *in vivo* de la liberación de TNF $\alpha$ inducida por LPS en ratones

Los agonistas de la invención pueden ser útiles como agentes anti-inflamatorios, con lo que los agonistas actúan como inhibidores de la inflamación mediada por receptores de prostaglandinas, y especialmente por el receptor DP<sub>1</sub> y/o DP<sub>2</sub>.

Las endotoxinas son los lipopolisacáridos (LPS) constituyentes de la membrana externa de las bacterias Gram negativas. Se ha demostrado que la respuesta a LPS implica la activación de diferentes poblaciones de células y conduce a la expresión de diversas citocinas inflamatorias que incluyen el factor de necrosis tumoral-alfa (TNF $\alpha$ ) e interferón gamma (IFN- $\gamma$ ).

La actividad anti-inflamatoria de los compuestos de la invención puede evaluarse después de un estímulo con LPS usando el siguiente protocolo:

Ratones C3H/HEN de ocho semanas de edad (IFFA-CREDO, L'arbresle, Francia) reciben un tratamiento oral con compuestos de la invención, por ejemplo, a 6 dosis diferentes (0,001, 0,01, 0,1, 1 o 3 y 10 mg/kg en CMC al 0,5%/tween-20 al 0,25%). Se usan seis ratones por grupo. Quince minutos después, las endotoxinas (O111: B4 Sigma, 0,3 mg/kg) se inyectan por vía intraperitoneal. La sangre entera heparinizada se recoge por decapitación. Se determina el nivel de TNF $\alpha$  en plasma por ELISA (R&D Systems, Abdingdon, RU). Los animales de control reciben CMC al 0,5%/tween-20 al 0,25% (10 ml/kg) como vehículo. Los datos obtenidos de los experimentos se expresan como la media  $\pm$  EEM y se analizan usando un análisis de varianza de una vía (ANOVA) seguido del ensayo de t de Dunnett.

La actividad de los compuestos de la invención se expresa como un porcentaje de inhibición de la liberación de TNF y la Dosis Inhibitoria al 50% del efecto máximo (DI<sub>50</sub>) se calcula en mg/kg. Usando dicho protocolo experimental, se generan datos para mostrar si los compuestos de la invención inhiben o no la liberación de TNF alfa en un modelo de estímulo con LPS.

Los siguientes ensayos adicionales pueden realizarse también para determinar los efectos anti-inflamatorios de los compuestos de la invención. Los compuestos pueden evaluarse para eficacia contra edema usando un ensayo de edema en pata de rata como se describe, por ejemplo, en Chan *et al.* (J. Pharmacol. Exp. Ther. 274:1531-1537, 1995); pirexia inducida por LPS en ratas conscientes como se describe, por ejemplo, en Chan *et al.* (J. Pharmacol. Exp. Ther. 274: 1531-1537, 1995); pirexia inducida por LPS en monos ardilla conscientes como se describe, por ejemplo, en Chan *et al.* (Eur. J. Pharmacol. 327: 221-225, 1997); hiperalgesia inflamatoria aguda inducida por carragenina en ratas como se descripción, por ejemplo, en Boyce *et al.* (Neuropharmacology 33:1609-1611, 1994).

### 5.6 Efecto *in vivo* sobre la relajación del tejido cavernoso del cuerpo del pene

La erección del pene se basa en tres acontecimientos fisiológicos principales: un aumento en el flujo de sangre arterial, una relajación del tejido expansivo de los cuerpos cavernosos y el cuerpo esponjoso, y una obstrucción del retorno venoso por compresión mecánica de las venas causada por el tejido expansivo.

Se usa PGE<sub>1</sub> en el tratamiento de la disfunción eréctil para relajar el músculo liso y, por lo tanto, estimular el desarrollo de la erección. La administración de PGE<sub>1</sub> se realiza por inyección local en el tejido cavernoso del pene. Sin embargo, la PGE<sub>1</sub> tiene una baja selectividad por los receptores prostanoideos y tiene efectos irritantes. Se han desarrollado agonistas selectivos de EP<sub>2</sub> y/o EP<sub>4</sub> para el tratamiento de la disfunción eréctil (documento WO 9902164).

El efecto de los compuestos de la invención sobre la relajación de las tiras de tejido cavernoso del cuerpo del pene puede ensayarse, por ejemplo, en un ensayo sobre tejido humano o de conejo como se describe a continuación:

*Obtención de tejido humano.* El tejido cavernoso se obtiene de pacientes sometidos a cirugía de implante protésico del pene para el tratamiento de la disfunción eréctil. En la sala de operaciones, las biopsias de los cuerpos cavernosos se ponen inmediatamente en solución salina fisiológica enfriada (4°C) y se transportan al laboratorio. Se cortan tiras de tejido, que miden aproximadamente 3 mm x 3 mm x 10 mm y se preparan para estudios de baño de órganos.

*Obtención de tejido de conejo.* Se sedan conejos macho adultos New Zealand White (4,5-5,0 kg) con quetamina (35 mg/kg) y xilazina (5 mg/kg) y se eutanasian con pentobarbital sódico (60 mg/kg de peso corporal). Después de la exsanguinación, se escinde el pene y se limpia retirando el cuerpo esponjoso y la uretra. Se cortan tiras de tejido del cuerpo cavernoso de la *tunica albuginea* circundante y se preparan para estudios de baño de órganos.

*Preparación de soluciones madre de compuesto y respuestas a dosis.* Se almacena PGE<sub>1</sub> (Cayman Chemical Co., Ann Arbor, MI) a -20°C en forma sólida hasta el día de uso. Se preparan soluciones madre añadiendo 1 ml de DMSO al 70% en un vial que contenía 1 mg de PGE<sub>1</sub>. Los compuestos de la invención se disuelven en 1 ml de DMSO al 70%, se dividen en alcuotas de 100  $\mu$ l y se almacenan a -20°C hasta su uso. Para las respuestas a la dosis en baños de órganos, las soluciones madre de PGE<sub>1</sub> y los compuestos de la invención se diluyen con DMSO al 70% para preparar la mayor concentración y después se diluyen en serie con DMSO al 2% para todas las demás dosis. En una curva de dosis-respuesta típica, la concentración de DMSO se comprueba que permanece por debajo del 0,1% en el baño de 25 ml y que no supera el 0,5% a la dosis más alta.

## ES 2 336 933 T3

*Estudios en baño de órganos.* Se montan tiras de tejido cavernoso humano o de conejo sobre un soporte fijado con cordones de seda y se unen a un transductor de tensión (modelo FT03; GrassTelefactor, Astro-Med, Inc. West Warwick, RI) con un cable metálico rígido. Después del montaje, las tiras de tejido se sumergen en baños de 25 ml de solución salina fisiológica (PSS; NaCl 118,3 mM, KCl 4,7 mM, MgSO<sub>4</sub> 0,6 mM, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1,2 mM, CaCl<sub>2</sub> 2,5 mM, NaHCO<sub>3</sub> 25 mM, CaNa<sub>2</sub> EDTA 0,026 mM, glucosa 11,1 mM). La solución se gasifica con aire al 95%/CO<sub>2</sub> al 5% para obtener un pH de 7,4 y la temperatura se mantiene a 37°C. Todas las tiras de tejido se tratan con indometacina 3 μM para inhibir la producción prostanoide endógena y minimizar la actividad contráctil espontánea. El tejido del cuerpo cavernoso se estira gradualmente y se determina la tensión isométrica de reposo óptima para la contracción. Después de cada 3-4 estirados (1 g de tensión/estirado), el tejido se contrae con fenilefrina 1 μM. Cuando la amplitud de la contracción inducida por fenilefrina está dentro del 10% de la contracción previa, se considera que esta tensión es óptima para la contracción isométrica. Todas las tiras de tejido se lavan exhaustivamente con PSS reciente. Las tiras de tejido después se contraen con fenilefrina 1 μM. Después de conseguir un tono estable, las tiras de tejido se exponen a concentraciones en aumento de PGE<sub>1</sub> o compuestos de la invención.

*Análisis de datos.* Al final de cada experimento, todas las tiras de tejido se tratan con papaverina 10 μM y nitroprú-sida 10 μM para inducir la relajación máxima (100%). La cantidad total de respuesta de relajación sobre el intervalo de concentraciones de fármaco ensayadas se determina por el área bajo las curvas representadas. Los valores de CE<sub>50</sub> se calculan usando el programa Prism (GraphPad, San Diego, CA). Para un análisis final de los datos, los parámetros de relajación se comparan usando ANOVA. Si el valor p de ANOVA es menor de 0,05, se realizan comparaciones dobles después del ensayo usando el ensayo de Tukey-Kramer.

La Tabla 2 resume los resultados de los estudios en baño de órganos. El compuesto N° 1 provocó una relajación dependiente de la dosis de las tiras de tejido cavernoso de pene humano después de la contracción con fenilefrina. El agonista del receptor DP, BW245C (molécula de referencia) provocó la relajación con una potencia comparable (CE<sub>50</sub> = 59 nM). Sin embargo, la extensión de la relajación (efecto máximo) fue mayor para el compuesto N° 1 que para BW245C. Ambos compuestos eran más potentes que PGE<sub>1</sub> (CE<sub>50</sub> = 210 nM). PGE<sub>1</sub> se usa actualmente para hombres que no responden a los inhibidores de PDE5. El agonista del receptor DP endógeno PGD<sub>2</sub> provocó una relajación dependiente de la dosis del tejido cavernoso humano a 0,3 μM, aunque provocó contracción a una concentración mayor. Este perfil de respuesta forma el fundamento de una evaluación *in vivo* de los agonistas de DP en animales.

TABLA 2

*Relajación de tiras de tejido cavernoso de pene humano después de la contracción con fenilefrina*

Compuesto	CE <sub>50</sub> [nM]
N° 1	29 nM
BW 245C	59 nM
PGE <sub>1</sub>	210 nM
PGD <sub>2</sub>	0,3

### *Experimentos in vivo (conejo): inyección intracavernosa*

Los agonistas de DP se solubilizaron en propilenglicol al 40% y se administraron por inyección intracavernosa para suministrar la dosis indicada en un volumen total de 0,1 ml. Como la presión intracavernosa del pene (PIC) está limitada en última instancia por la presión arterial sistémica (PAS), todas las respuestas eréctiles se normalizaron calculando la proporción PIC/PAS.

En conejos, las inyecciones intracavernosas del compuesto N° 1 provocaron tanto periodos prolongados de tumescencia del pene como episodios transitorios que duraron 1-3 minutos. La presión arterial permaneció constante. En un conejo, se registraron episodios repetidos y transitorios de tumescencia espontánea del pene después de la administración intracavernosa de la dosis más alta (5 μg) del compuesto N° 1. En un animal distinto, la inyección intracavernosa de la dosis más alta (5 μg) del compuesto N° 1 dio como resultado el registro de ondas arteriales que se transmitían claramente al compartimento cavernoso, indicando que las arterias de resistencia del pene estaban totalmente dilatadas. Comparado con el vehículo (propilenglicol al 40%), el compuesto N° 1 provocó consistentemente aumentos dependientes de la dosis en la proporción PIC/PAS, como se determina por el pico de respuesta o el "área bajo la curva" (AUC). Se observaron también respuestas pro-eréctiles similares en ratas. La inyección intracavernosa de BW245C en ratas dio como resultado una actividad pro-eréctil similar a la del compuesto N° 1. En conejos no se observaron cambios manifiestos en la presión sanguínea sistémica después de la administración de cualquier dosis del compuesto N° 1. Todos los datos sugieren que los receptores de DP<sub>1</sub> median en la relajación del músculo liso cavernoso en múl-

## ES 2 336 933 T3

tiples especies y que el compuesto N° 1 administrado por vía intracavernosa es un potente agonista que muestra una actividad eficaz para iniciar erecciones en seres humanos.

Actualmente, se usa PGE<sub>1</sub> para hombres que no responden a los inhibidores de PDE5 debido a la extensión del daño local en el tejido del pene o debido a que el daño neural evita el uso de inhibidores de PDE5 como una opción terapéutica. Sin embargo, la PGE<sub>1</sub> provoca respuestas fibróticas locales a la inyección, conduciendo a un aumento gradual de la gravedad de la fibrosis basándose en mediciones de peso corporal previas a la dosificación. El objetivo es conseguir aproximadamente el mismo peso corporal medio para cada grupo de tratamiento.

### 5.7 Efecto *in vivo* sobre la prevención de la pérdida ósea

La actividad de los compuestos de la invención como un agente anabólico óseo puede ensayarse, por ejemplo, en un modelo de ovariectomía de rata de la siguiente manera. Se dividen aleatoriamente ratas Sprague Dawley hembra vírgenes en grupos de tratamiento basándose en mediciones de peso corporal previas a la dosificación. El objetivo es conseguir aproximadamente el mismo peso corporal medio para cada grupo de tratamiento.

*Cirugía:* los animales se sedan con quetamina y xilazina (SOP ST-AEP007). El pelo de la superficie abdominal dorsal se afeita y se prepara para la cirugía aséptica. Se realiza una sola incisión a lo largo de la línea media, empezando justo antes de la zona lumbar de la columna vertebral. La musculatura subyacente en ambos lados de la zona dorsolateral del abdomen se expone. Se realiza una incisión a través de la musculatura para obtener acceso a la cavidad abdominal.

Para un grupo de animales (“Ovx”), el ovario se localiza y se corta en la unión del cuerno uterino y se retira. El útero se sustituye y los músculos se suturan. Se repite en el lado contra-lateral.

Para un grupo de animales de control (“Sham”), los ovarios son localizan y exteriorizan, pero no se retiran. El útero y los ovarios se sustituyen en la cavidad abdominal y los músculos se suturan.

Las capas de músculo se cierran con sutura y la incisión cutánea se cierra usando grapas para heridas.

*Dosificación:* La dosificación comienza un día después de realizar la cirugía. Los animales reciben inyecciones subcutáneas diarias durante 6 semanas después de la cirugía. Se usan dosis de 0,1, 1,0, 10,0 mg/kg de los compuestos de la invención; un grupo de control recibe inyecciones subcutáneas diarias de 17- $\beta$ estradiol (Sigma Chemicals) de 30  $\mu$ g/kg durante 6 semanas después de la cirugía. A los grupos de animales de control (el grupo “sham” y un grupo “Ovx”) se les inyecta s.c. el vehículo (solución salina).

*Marcadores Fluorocromos:* para posibilitar la realización de una histomorfometría dinámica, se dan dos inyecciones de calceína (10 mg/kg, i.p.) 6 y 2 días antes de la necropsia.

*Pesos Corporales y Observaciones Clínicas:* los pesos corporales se registran semanalmente, empezando una semana antes de comenzar el tratamiento y continuando hasta la conclusión del periodo de tratamiento. Además, las ratas se observan diariamente por si hubiera señales de mala salud o reacción al tratamiento.

*Bioquímica de Sangre y Orina:* se recoge una muestra de orina de dieciocho horas de cada animal antes del sacrificio usando jaulas metabólicas. En el sacrificio, se recogen muestras de sangre de cada rata, bajo anestesia por inhalación (éter), del seno retro-orbital. Los siguientes parámetros se miden en orina y suero.

*Procedimiento Paramétrico:* la desoxipiridinolina urinaria se mide mediante un inmuno-ensayo (Pirilinks-D Quidel, Mt. View, CA); la creatinina urinaria se mide mediante un instrumento químico COBAS (Creatinine Reagent Roche Diagnostics, Indianapolis, IN); la osteocalcina en suero se mide mediante un inmuno-ensayo (Rat OSU DR-MA, Immunotopics San Clemente, CA).

*Necropsia:* una vez finalizada la dosificación y la recogida de orina/sangre, los animales se eutanasian usando asfixia con dióxido de carbono. Todos los animales se someten al siguiente procedimiento. Los pesos corporales terminales se registran. Se realiza un examen superficial y se comprueban las anomalías. Se realiza la siguiente investigación, como se detalla:

*Exploraciones de la Densidad Mineral Ósea:* las vértebras lumbares L2-L4 se someten a una exploración DXA (absortimetría de rayos X de doble energía) usando un instrumento PIXImus (Lunar Corp. Madison, WI). El contenido, el área y la densidad mineral ósea se determinan a partir de la exploración PDCI. Las mediciones de densidad mineral ósea por DXA se describen en Formica *et al.* 1998, Osteoporosis International, 8 (5), 460-467.

El fémur derecho se somete a una exploración pQCT (tomografía computerizada cuantitativa periférica) usando un Stratec XCT RM y el programa asociado (StratecMedizintechnik GmbH, Pforzheim, Alemania. Versión 5.40 C del programa). El fémur se explora en dos sitios, al 20% del fémur distal y al 50% del fémur medio. La posición se verifica usando vistas de reconocimiento y se registran los resultados de exploración de una rodaja de 0,5 mm perpendicular al eje longitudinal del eje del fémur. El contenido mineral óseo total, el área ósea total, la densidad mineral ósea total,

## ES 2 336 933 T3

el contenido mineral óseo trabecular, el área ósea trabecular y la densidad mineral ósea trabecular se analizan a partir de la exploración del fémur distal. Para el fémur a la mitad del eje, se analiza el contenido mineral óseo total, el área ósea total, la densidad mineral ósea total, el contenido mineral óseo cortical, el área ósea cortical, la densidad mineral ósea cortical, el perímetro periosteal y el perímetro endosteal.

5

Las mediciones de la densidad mineral ósea por pQCT se describen en Formica *et al.* 1998, Osteoporosis International, 8 (5), 460-467 y en Tsugeno 2002, Osteoporosis International 13 (8), 650-656.

10 *Ensayo Biomecánico de las Vértebras Lumbares y los Fémures:* la vértebra lumbar L5 se aísla de L5-L6 y se prepara para un ensayo mecánico retirando el arco vertebral y el pedículo usando una sierra de diamante de baja velocidad. Los extremos craneal y caudal de cada cuerpo vertebral se retiran también para producir una muestra de cuerpo vertebral con dos superficies paralelas y un altura de aproximadamente 4 mm. La anchura del cuerpo vertebral en las direcciones medio-lateral y anterior-posterior se mide usando calibres digitales electrónicos. Estos valores se registran y se usan en el cálculo del área de la sección transversal. La altura de la muestra del cuerpo vertebral se toma también con un calibre electrónico y se registra. Las muestras se ponen después entre dos rodillos y se aplica carga a una velocidad de desplazamiento de 6 mm/min hasta que se produce el fallo en un Instrumento de Ensayo Mecánico Instron (Instron 4465, diseño actualizado a 5500).

15 La carga y el desplazamiento se registran mediante el programa Instron Instrument Software (Merlin II, Instron) y las localizaciones de carga máxima a fallo, dureza y energía absorbida se seleccionan manualmente de la curva de carga y desplazamiento. Las propiedades intrínsecas, tensión, módulo elástico y resistencia se calculan entonces a partir de la carga máxima, dureza, energía absorbida, área de la sección transversal y altura.

20 Después de la exploración pQCT, se toma el diámetro anterior a posterior en el punto medio del eje femoral con un calibre electrónico y se registra. El fémur se pone después sobre los soportes inferiores de una instalación fija que puede doblarse de tres puntos con el lado anterior orientado hacia abajo en un Instrumento de Ensayo Mecánico Instron (Instron 4465, diseño actualizado a 5500). El espacio entre los dos soportes inferiores se ajusta a 14 mm. El dispositivo de carga superior se alinea con el centro del eje femoral. La carga se aplica a una velocidad de desplazamiento constante de 6 mm/min hasta que el fémur se rompe. Las localizaciones de la carga máxima, dureza y energía absorbida se seleccionan manualmente y los valores se calculan mediante el programa del instrumento (Merlin II, Instron). Las propiedades intrínsecas, tensión, módulo elástico y resistencia se calculan a partir de la carga máxima, dureza, energía absorbida, diámetro anterior-posterior y momento de inercia.

25 Después del ensayo de doblado de tres puntos, un segmento de 3 mm de la metáfisis femoral distal se corta directamente cerca del cóndilo femoral con una sierra de diamante de baja velocidad. La carga se aplica con un indentador cilíndrico (con una cara de ensayo plana de 1,6 mm de diámetro (d)) hasta el centro de la cavidad medular en la cara distal del segmento. Se permite que el indentador penetre en la cavidad a una velocidad de desplazamiento constante de 6 mm/min a una profundidad de 2 mm antes de invertir la carga. Las localizaciones de la carga máxima, dureza y energía absorbida se seleccionan manualmente a partir de la curva de desplazamiento de carga y después se calculan mediante el programa del instrumento (Merlin II, Instron). La tensión se calcula dividiendo la carga máxima por el área del indentador.

### *Histología Ósea e Histomorfometría Dinámica*

30 *Deshidratación, embebido y troceado.* Muestras fijadas en formalina de tibia proximal se deshidratan en una serie de etanol de concentración ascendente. Después de la deshidratación, las muestras de hueso se infiltran y embeben en un plástico basado en metacrilato de metilo. Las muestras embebidas de la tibia proximal se trocean longitudinalmente usando un microtomo rotatorio motorizado de Leitz equipado con un cuchillo de microtomo de carburo de volframio. Una vez cortados los bloques, se tiñen secciones de 4  $\mu\text{m}$  con tinte tricromático de Goldner para microscopía. Las secciones de 8  $\mu\text{m}$  se dejan sin teñir para microscopía de epifluorescencia.

### *Determinaciones histomorfométricas*

35 Se realiza la histomorfometría estática y dinámica de la tibia proximal. La medición incluye la esponjosa secundaria (área que es de 1,05 desde el punto más bajo de la placa de cultivo).

40 La histomorfometría ósea se realiza usando un programa informático OsteoMeasure (OsteoMetrics, Inc. Atlanta, GA) interconectado con un microscopio óptico/epifluorescente Nikon Eclipse E400 y un subsistema de vídeo. La histomorfometría se lee sin conocer los detalles del procedimiento. El área de tejido total, área ósea trabecular, perímetro óseo trabecular, y perímetro de osteoclasto se mide en las secciones teñidas con tricromático de Goldner de 4  $\mu\text{m}$  de espesor. El porcentaje de área ósea trabecular, número trabecular, espesor trabecular, separación trabecular y perímetro de osteoclasto como porcentaje de las superficies ósea se calculan después de acuerdo con fórmulas normalizadas. Para los parámetros dinámicos, se mide el perímetro de calceína mono-marcado, perímetro de calceína marcado-doble, y anchura entre las marcas (espesor de la marca) en las secciones no teñidas de 8  $\mu\text{m}$  de espesor, y se calcula la superficie de mineralización, la velocidad de yuxtaposición mineral, la velocidad de formación ósea con referencia a la superficie.

65

## ES 2 336 933 T3

### 5.8 Efecto *in vivo* sobre la artritis en ratas inducida por adyuvantes

Los compuestos pueden calcularse también para su eficacia contra la artritis en ratas inducida por adyuvantes. En un ejemplo de dicho ensayo, se pesan ratas Lewis hembra (peso corporal aproximadamente 146-170 g), se marcan en la oreja y se asignan a grupos (un grupo de control negativo en el que la artritis no se induce, un grupo de control con vehículo, un grupo de control positivo al que se administra indometacina a una dosis diaria total de 1 mg/kg y cuatro grupos a los que se administra un compuesto de ensayo a dosis diarias totales de 0,10-3,0 mg/kg) de manera que los pesos corporales son equivalentes dentro de cada grupo. Seis grupos de 10 ratas a cada una de las cuales se le inyecta en la pata trasera 0,5 mg de *Mycobacterium butiricum* en 0,1 ml de aceite mineral ligero (adyuvante), y un grupo de control de negativo de 10 ratas que aún no se les ha inyectado el adyuvante. Los pesos corporales, volúmenes de pata contralaterales (determinados por pletismografía de desplazamiento de mercurio) y radiografías laterales (obtenidas bajo anestesia con Quetamina y Xilazina) se determinan antes (día -1) y 21 días después de la inyección de adyuvante, y los volúmenes primarios de pata se determinan antes (día -1) y en los días 4 y 21 después de la inyección del adyuvante. Las ratas se anestesian con una inyección intramuscular de 0,03-0,1 ml de una combinación de Quetamina (87 mg/kg) y Xilazina (13 mg/kg) para las radiografías y una inyección de adyuvante. Las radiografías se realizan de ambas patas traseras en el día 0 y día 21 usando las películas Faxitron (45 kVp, 30 segundos) y Kodak X-OMAT TL, y se revelan en un procesador automático; un investigador evalúa las radiografías para los cambios en los tejidos blandos y duros, que preferiblemente desconoce los detalles del tratamiento experimental. Los cambios radiográficos pueden clasificarse numéricamente de acuerdo con la gravedad, por ejemplo, aumento del volumen de tejido blando (0-4), estrechamiento o ensanchamiento de los espacios articulares (0-5), erosión subcondrial (0-3), reacción periosteal (0-4), osteolisis (0-4) subluxación (0-3), y cambios articulares degenerativos (0-3). Pueden usarse criterios específicos para establecer la clasificación numérica de la gravedad para cada cambio radiográfico. La puntuación máxima posible por pata puede establecerse a un valor determinado por el investigador, por ejemplo, 26. Un compuesto de ensayo a dosis diarias totales de 0,1, 0,3, 1, y 3 mg/kg/día, de indometacina a una dosis diaria total de 1 mg/kg/día, o vehículo (agua estéril con metrocelina al 0,5%) se administra después *per os* b.i.d. empezando después de la inyección de adyuvante y continuando durante 21 días. Los compuestos se preparan semanalmente, se refrigeran en la oscuridad hasta que se usan, y se mezclan con formación de vórtice inmediatamente antes de su administración.

Todas las composiciones y/o usos descritos y reivindicados en el presente documento pueden prepararse y ejecutarse sin excesiva experimentación a la luz de la presente descripción. Aunque las composiciones y procedimientos de la presente invención se han descrito en términos de realizaciones preferidas, resultará evidente para los especialistas en la técnica que pueden aplicarse variaciones a las composiciones y/o procedimientos y en las etapas o en la secuencia de etapas del procedimiento descrito en el presente documento. Más específicamente, resultará evidente que ciertos agentes que están relacionados tanto química como fisiológicamente pueden sustituir a los agentes descritos en el presente documento consiguiendo los mismos resultados o similares.

## REIVINDICACIONES

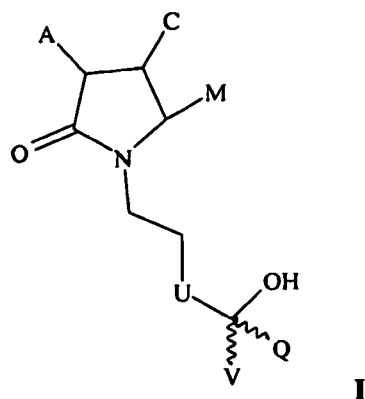
1. Un compuesto de Fórmula I

5

10

15

20

**I**

en la que:

25

cada uno de A y C es hidrógeno;

30

M se selecciona entre el grupo constituido por alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>7</sub> opcionalmente sustituido, alqueno C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alquino C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> y -(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>-B en la que B se selecciona entre el grupo que comprende arilo carbocíclico opcionalmente sustituido, heteroalíclico opcionalmente sustituido que tiene de 3 a 8 átomos en el anillo y al menos un átomo de N, O o S en el anillo y un grupo heteroaromático que tiene un solo anillo con 5 ó 6 átomos en el anillo y al menos un átomo de N, O o S en el anillo; en la que q en “-(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>-B” se selecciona entre 1, 2, 3 y 4;

U es (CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub> en la que p se selecciona entre 0, 1 y 2;

35

cada uno de V y Q es independientemente hidrógeno, alquilo opcionalmente sustituido, alqueno opcionalmente sustituido, alquino opcionalmente sustituido, heteroalquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, heterocicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, arilalquilo, -CR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>-W, en la que R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> se seleccionan independientemente entre H y alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>; o R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> pueden formar un cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> con el carbono al que están unidos;

40

W se selecciona entre hidrógeno, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, arilo y heteroarilo; siendo al menos uno de V y Q distinto de hidrógeno; y sales farmacéuticamente aceptables del mismo.

2. El compuesto de la reivindicación 1 en el que B es arilo carbocíclico opcionalmente sustituido.

3. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 y 2 en el que B es fenilo opcionalmente sustituido.

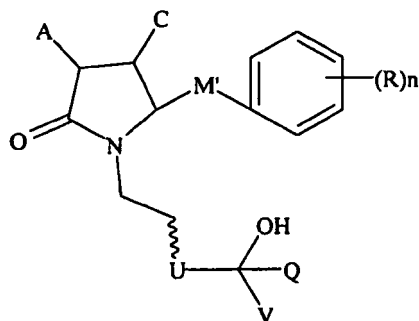
45

4. Un compuesto de la reivindicación 1 que tiene la Fórmula II:

50

55

60

**II**

en la que

65

M' se selecciona entre el grupo constituido por alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>7</sub> opcionalmente sustituido, alqueno C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, y alquino C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>;

R es C(=O)Z donde Z se selecciona entre hidrógeno, hidroxilo, alcoxi opcionalmente sustituido y alquilo opcionalmente sustituido; o R es amino o alquilamina opcionalmente sustituida;

# ES 2 336 933 T3

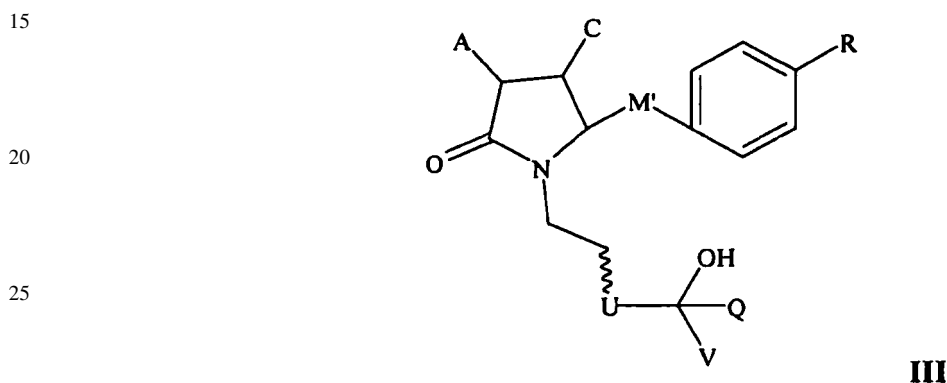
U es  $(CH_2)_p$  en la que p se selecciona entre 0, 1 y 2;

5 cada uno de V y Q se selecciona independientemente entre hidrógeno, alquilo opcionalmente sustituido, alqueni-  
 opcionalmente sustituido, alquinilo opcionalmente sustituido, heteroalquilo  $C_1-C_6$ , cicloalquil  $C_3-C_6$  alquilo  $C_1-C_6$ ,  
 heterocicloalquil  $C_3-C_6$  alquilo  $C_1-C_6$ , arilalquilo y  $-CR^1R^2-W$ , en la que  $R^1$  y  $R^2$  se seleccionan independientemente  
 entre H y alquilo  $C_1-C_6$ ; o  $R^1$  y  $R^2$  pueden formar un cicloalquilo  $C_3-C_6$  con el carbono al que están unidos; y

10 W se selecciona entre hidrógeno, alquilo  $C_1-C_6$ , cicloalquilo  $C_3-C_6$ , cicloalquil  $C_3-C_6$  alquilo  $C_1-C_6$ , arilo y hete-  
 roarilo; siendo al menos uno de V y Q distinto de hidrógeno; y sales farmacéuticamente aceptables del mismo.

5. El compuesto de la reivindicación 4 en el que n es 1 ó 2.

6. Un compuesto de la reivindicación 1 que tiene la siguiente Fórmula III:



30 en la que

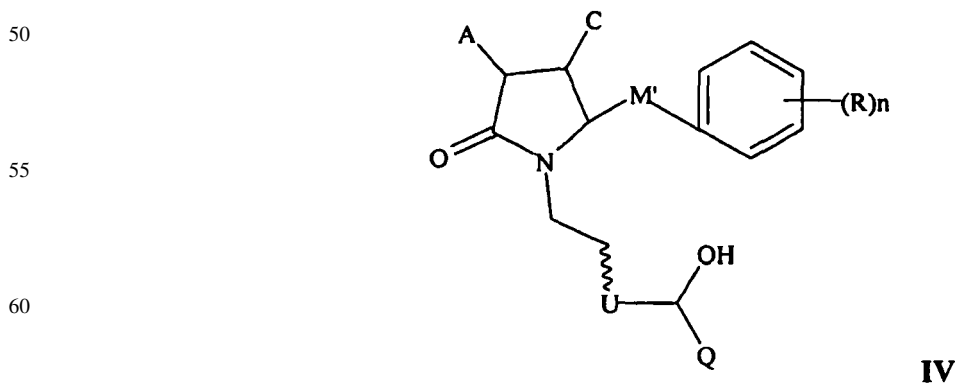
$M'$  se selecciona entre el grupo constituido por alquilo  $C_1-C_7$  opcionalmente sustituido, alqueni-  
 $C_1-C_6$ ;

35 R es  $C(=O)Z$  donde Z se selecciona entre hidrógeno, hidroxilo, alcoxi opcionalmente sustituido y alquilo opcional-  
 mente sustituido; o R es amino o alquilamina opcionalmente sustituida;

40 U es  $(CH_2)_p$  en la que p se selecciona entre 0, 1 y 2; cada uno de V y Q se selecciona independientemente entre  
 hidrógeno, alquilo opcionalmente sustituido, alqueni-  
 opcionalmente sustituido, alquinilo opcionalmente sustituido, heteroalquilo  $C_1-C_6$ , cicloalquil  $C_3-C_6$  alquilo  $C_1-C_6$ , heterocicloalquil  $C_3-C_6$  alquilo  $C_1-C_6$ , arilalquilo y  $-CR^1R^2-W$ ,  
 en la que  $R^1$  y  $R^2$  se seleccionan independientemente entre H y alquilo  $C_1-C_6$ ; o  $R^1$  y  $R^2$  pueden formar un cicloalquilo  
 $C_3-C_6$  con el carbono al que están unidos;

45 W se selecciona entre hidrógeno, alquilo  $C_1-C_6$ , cicloalquilo  $C_3-C_6$ , cicloalquil  $C_3-C_6$  alquilo  $C_1-C_6$ , arilo y hete-  
 roarilo; siendo al menos uno de V y Q distinto de hidrógeno; y sales farmacéuticamente aceptables del mismo.

7. El compuesto de la reivindicación 1 que tiene la siguiente Fórmula IV:



65 en la que

$M'$  se selecciona entre el grupo constituido por alquilo  $C_1-C_7$  opcionalmente sustituido, alqueni-  
 $C_1-C_6$ ;

## ES 2 336 933 T3

R es C(=O)Z donde Z se selecciona entre hidrógeno, hidroxilo, alcoxi opcionalmente sustituido y alquilo opcionalmente sustituido; o R es amino o alquilamina opcionalmente sustituida; n es un número entero seleccionado entre 0, 1, 2, 3, 4 y 5;

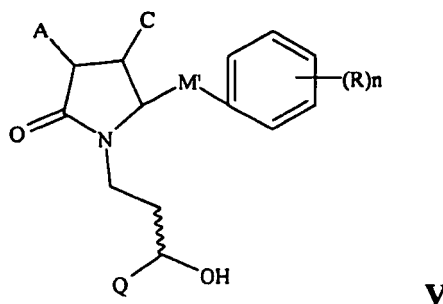
5 U es (CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub> en la que p se selecciona entre 0, 1 y 2;

Q es alquilo opcionalmente sustituido, que preferiblemente tiene de 1 a aproximadamente 12 átomos de carbono, alquenilo opcionalmente sustituido que preferiblemente tiene de 2 a aproximadamente 12 átomos de carbono, alquinilo  
10 opcionalmente sustituido que preferiblemente tiene de 2 a aproximadamente 12 átomos de carbono, heteroalquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, cicloalquil C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, heterocicloalquil C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, aril alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> y -CR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>-W, en la que R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> se seleccionan independientemente entre H y alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>; o R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> pueden formar un cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> con el carbono al que están unidos;

15 W se selecciona entre hidrógeno, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, cicloalquil C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, arilo, heteroarilo y aril alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>; y sales farmacéuticamente aceptables del mismo.

8. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 en el que p es cero.

20 9. Un compuesto de la reivindicación 1 que tiene la siguiente Fórmula V



35 en la que

M' se selecciona entre el grupo constituido por alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>7</sub> opcionalmente sustituido, alquenilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, y alquinilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>;

40 R es C(=O)Z donde Z se selecciona entre hidrógeno, hidroxilo, alcoxi opcionalmente sustituido y alquilo opcionalmente sustituido; o R es amino o alquilamina opcionalmente sustituida; n es un número entero seleccionado entre 0, 1, 2, 3, 4 y 5;

45 Q se selecciona entre alquilo opcionalmente sustituido, alquenilo opcionalmente sustituido, alquinilo opcionalmente sustituido, o arilalquilo opcionalmente sustituido, heteroalquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, cicloalquil C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, heterocicloalquil C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, aril alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> y -CR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>-W, en la que R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> se seleccionan independientemente entre H y alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>; o R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> pueden formar un cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> con el carbono al que están unidos;

50 W se selecciona entre hidrógeno, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, cicloalquil C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, arilo, heteroarilo y aril alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>; y sales farmacéuticamente aceptables del mismo.

10. El compuesto de la reivindicación 9 en el que n es 1 y R es un sustituyente en la posición *para*.

11. El compuesto de la reivindicación 9 en el que R es -C(O)OH.

55 12. El compuesto de la reivindicación 9 en el que Q es alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> lineal o ramificado o arilalquilo opcionalmente sustituido.

60 13. Un compuesto de la reivindicación 9 en el que R es -C(O)OH y está en una posición "para" con lo que n es 1; Q es CR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>-W, en la que R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> se seleccionan independientemente entre H y alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>; o R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> pueden formar un cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> con el carbono al que están unidos; W se selecciona entre hidrógeno, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, cicloalquil C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, arilo, heteroarilo y aril alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>; y sales farmacéuticamente aceptables del mismo.

65 14. Un compuesto de la reivindicación 9 en el que R es -C(O)OH y está en una posición "para"; n es 1; Q es CR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>-W, en la que R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> se seleccionan independientemente entre H y alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>; o R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> pueden formar un cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> con el carbono al que están unidos; W se selecciona entre hidrógeno, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, cicloalquil C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, y arilo; y sales farmacéuticamente aceptables del mismo.

15. El compuesto de la reivindicación 1, en el que M tiene una fórmula:



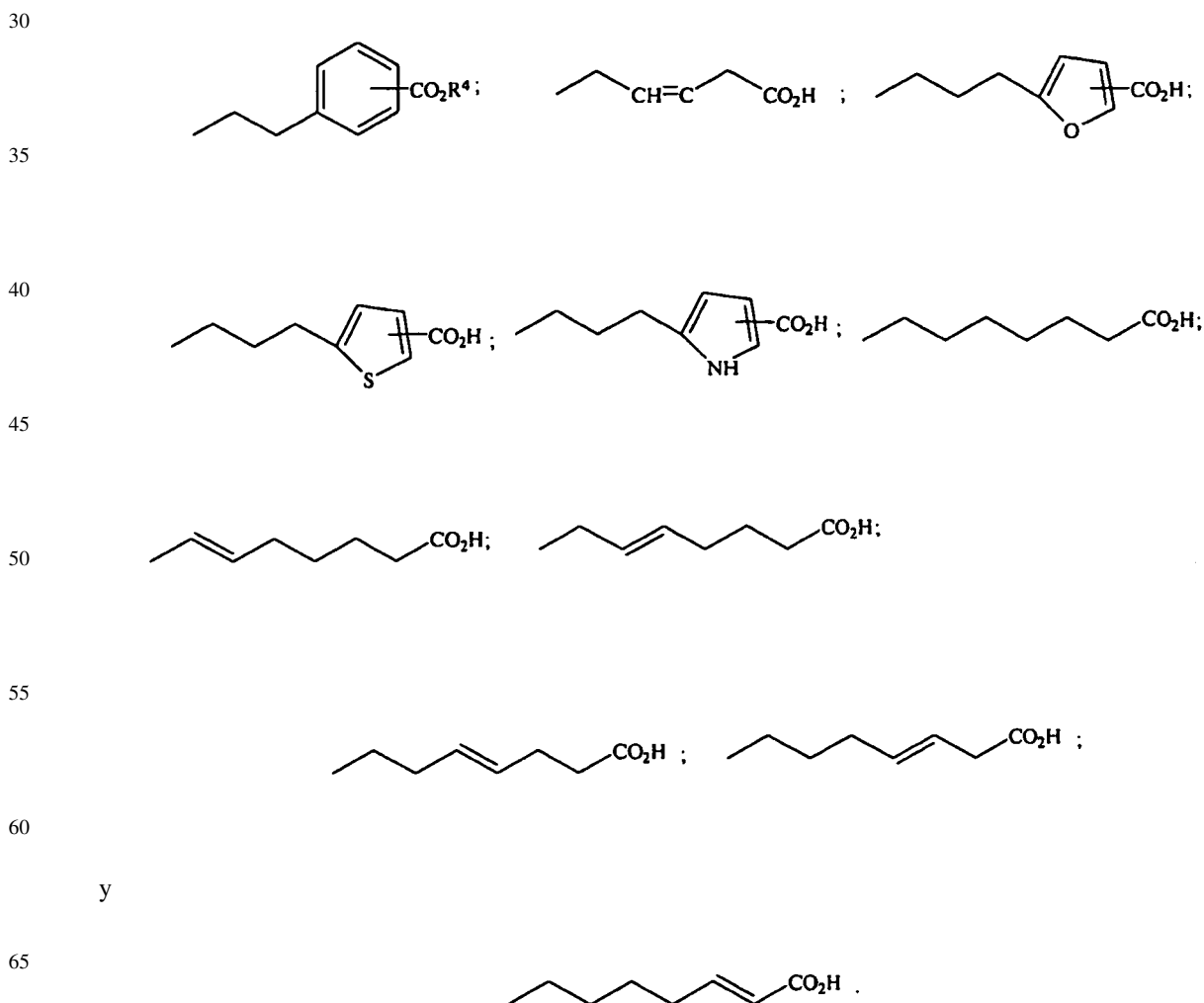
10 en la que

M' se selecciona entre el grupo constituido por alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>7</sub> opcionalmente sustituido, alquenilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, y alquinilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>;

15 A se selecciona entre el grupo constituido por piridilo, pirrolilo, furilo (furanilo), 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  
20 [1,2-a]piridilo, benzotiazolilo, benzoxazolilo, quinolizínilo, quinazolinilo, 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-tetrahydroquinolilo, 5,6,7,8-tetrahydroisoquinolilo, purinilo, pteridinilo, carbazolilo, xantenilo y benzoquinolilo opcionalmente sustituidos; y

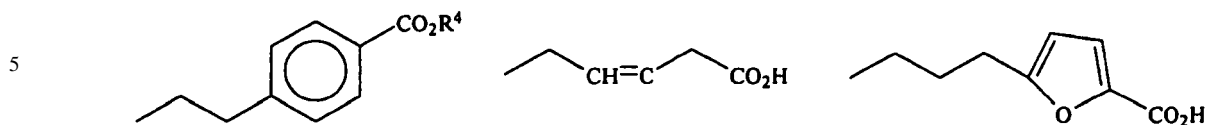
25 R es C(=O)Z donde Z se selecciona entre hidrógeno, hidroxilo, alcoxi opcionalmente sustituido y alquilo opcionalmente sustituido; o R es amino o alquilamina opcionalmente sustituida; n es un número entero seleccionado entre 0, 1, 2, 3, 4 y 5.

16. El compuesto de la reivindicación 1, en el que M se selecciona entre el grupo constituido por



ES 2 336 933 T3

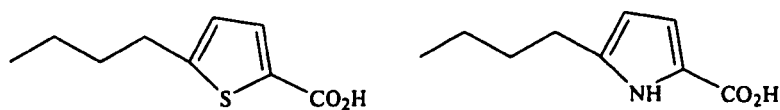
17. El compuesto de la reivindicación 1, en el que M se selecciona entre el grupo constituido por



10

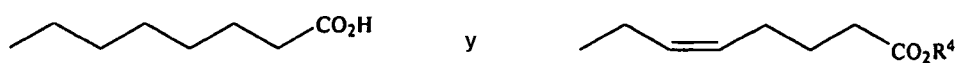
15

20



25

30

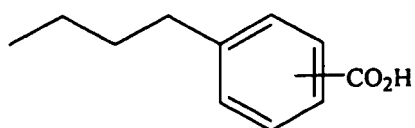


35

en la que R<sup>4</sup> se selecciona entre el grupo constituido por H, un grupo alquilo, un grupo arilo o una sal.

18. El compuesto de la reivindicación 1, en el que M es

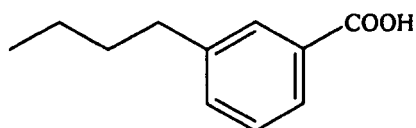
40



45

19. El compuesto de la reivindicación 1, en el que M es

50

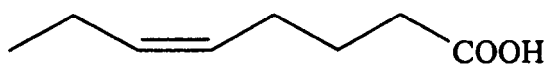


55

60

20. El compuesto de la reivindicación 1, en el que M es

65



## ES 2 336 933 T3

21. El compuesto de la reivindicación 1, en el que el compuesto se selecciona entre el grupo constituido por:

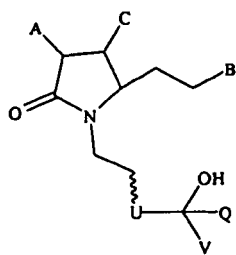
ácido 4-(3-(2*S*)-1-[(3*R*)-3-ciclohexil-3-hidroxiopropil]-5-oxotetrahidro-1*H*-2-pirrolilpropil)benzoico.

ácido 4-(3-(2*S*)-1-[(3*S*)-3-ciclohexil-3-hidroxiopropil]-5-oxotetrahidro-1*H*-2-pirrolilpropil)benzoico.

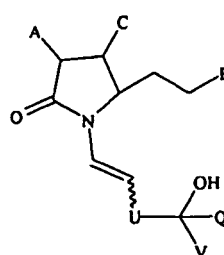
ácido 7-[(2*S*)-1-[(3*R*)-3-ciclohexil-3-hidroxiopropil]-5-oxopirrolidin-2-il]heptanoico y

ácido 7-[(2*S*)-1-[(3*R*)-3-ciclohexil-3-hidroxiopropil]-5-oxopirrolidin-2-il]heptanoico.

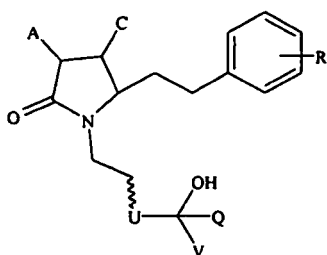
22. Un compuesto de cualquiera de las siguientes fórmulas:



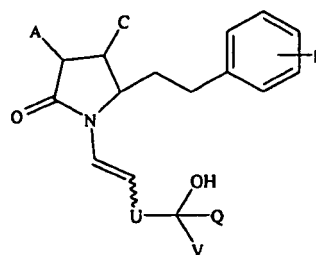
I.2



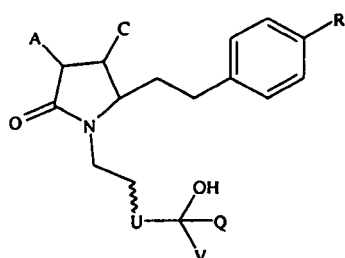
I.3



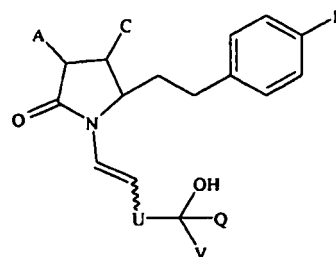
II.2



II.3

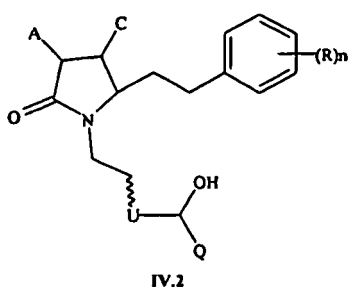


III.2

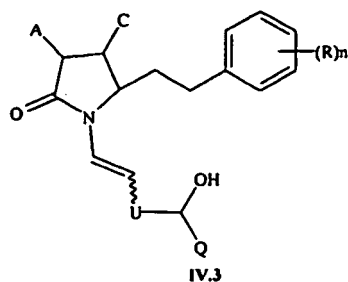


III.3

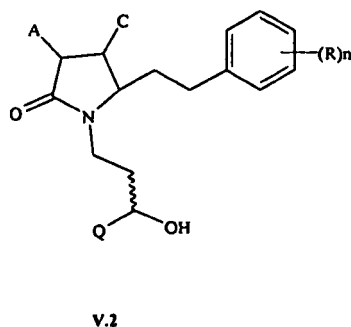
5



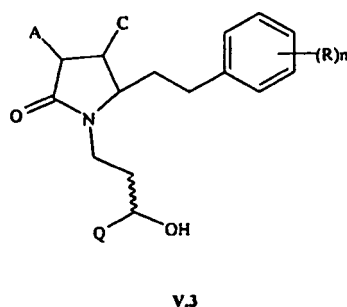
10



15



20



25

en las que cada uno de A y C es independientemente hidrógeno o hidroxilo;

30 B se selecciona entre el grupo que comprende arilo carbocíclico opcionalmente sustituido, heterocíclico opcionalmente sustituido que tiene de 3 a 8 átomos en el anillo y al menos un átomo de N, O o S en el anillo y un grupo heteroaromático que tiene un solo anillo con 5 ó 6 átomos en el anillo y al menos un átomo de N, O o S en el anillo;

35 R es C(=O)Z donde Z se selecciona entre hidrógeno, hidroxilo, alcoxi opcionalmente sustituido y alquilo opcionalmente sustituido; o R es amino o alquilamina opcionalmente sustituida;

n es un número entero seleccionado entre 0, 1, 2, 3, 4 y 5;

40

U es (CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub> en la que p se selecciona entre 0, 1 y 2;

45 cada uno de V y Q se selecciona independientemente entre hidrógeno, alquilo opcionalmente sustituido, alqueno opcionalmente sustituido, alquino opcionalmente sustituido, heteroalquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, heterocicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, arilalquilo y -CR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>-W, en la que R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> se seleccionan independientemente entre H y alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>; o R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> pueden formar un cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> con el carbono al que están unidos; y

W se selecciona entre hidrógeno, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, arilo y heteroarilo; siendo al menos uno de V y Q distinto de hidrógeno; y sales farmacéuticamente aceptables del mismo.

23. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 22 para usar como un medicamento.

50

24. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 22 para usar en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad o trastorno asociado con una deficiencia de prostaglandina.

55

25. Uso de un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 22 para la fabricación de un medicamento para tratar a un mamífero que padece o es susceptible de padecer ictiosis, xeroftalmía, un trastorno del sueño, úlceras gástricas, contracción muscular indeseada, trastornos inflamatorios, disfunción eréctil, asma, hipertensión, coagulación de la sangre indeseada, infertilidad o un trastorno de la fertilidad, trastorno eosinófilo, disfunción sexual, glaucoma, presión intraocular elevada, disfunción renal, una enfermedad o trastorno por deficiencia inmune, SIDA, o pérdida ósea indeseada.

60

26. El uso de la reivindicación 25, en el que el mamífero es macho.

65

27. Uso de un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 22 para fabricar un medicamento para tratar parto prematuro, dismenorrea, asma, hipertensión, un trastorno de la fertilidad, coagulación de la sangre indeseada, preeclampsia, eclampsia, un trastorno eosinófilo, pérdida ósea indeseada, disfunción sexual, disfunción renal, un trastorno por deficiencia inmune, xeroftalmía, ictiosis, presión intraocular elevada, un trastorno del sueño, una úlcera gástrica, un trastorno inflamatorio o disfunción eréctil.

## ES 2 336 933 T3

28. El uso de la reivindicación 27 para la fabricación de un medicamento para tratar la disfunción eréctil, comprendiendo dicho uso la inyección intracavernosa de una cantidad eficaz de un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 22.

5 29. Una composición farmacéutica que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y uno o más compuestos de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 22.

10 30. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 24 en el que la enfermedad o trastorno asociado con una deficiencia de prostaglandinas es contracción muscular indeseada, infertilidad, glaucoma, SIDA, parto prematuro, dismenorrea, asma, hipertensión, un trastorno de la fertilidad, coagulación de la sangre indeseada, preeclampsia, eclampsia, un trastorno eosinófilo, pérdida ósea indeseada, disfunción sexual, disfunción renal, un trastorno por deficiencia inmune, xeroftalmía, ictiosis, presión intraocular elevada, un trastorno del sueño, una úlcera gástrica, un trastorno inflamatorio o disfunción eréctil.

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65