



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 359 814**

51 Int. Cl.:
A61F 6/00 (2006.01)
A61F 6/04 (2006.01)
A61F 6/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **04704789 .9**
96 Fecha de presentación : **23.01.2004**
97 Número de publicación de la solicitud: **1585732**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **19.10.2005**

54 Título: **Composición espermicida y procedimientos de uso de la misma.**

30 Prioridad: **24.01.2003 US 350232**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
27.05.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
27.05.2011

73 Titular/es: **RESEARCH TRIANGLE INSTITUTE**
3040 Cornwallis Road
Research Triangle Park, North Carolina 27709, US

72 Inventor/es: **Cook, Clarence, Edgar;**
Sloan, Carol, Delta;
Thomas, Brian, Frazier y
Navarro, Hernan, A.

74 Agente: **Polo Flores, Carlos**

ES 2 359 814 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

Composición espermicida y procedimientos de uso de la misma

5 Antecedentes de la invención

Campo de la invención

10 La presente invención se refiere a compuestos de hexahidroindenopiridina que actúan como espermicidas o composiciones espermicidas que contienen los mismos y procedimientos para matar el esperma móvil usando los compuestos y composiciones.

Análisis de los Antecedentes

15 En los Estados Unidos y gran parte del mundo occidental, la demanda elevada y creciente de anticonceptivos depende de las preferencias de estilos de vida, mientras que en muchas naciones en vías de desarrollo, el control de la población es una preocupación de salud pública altamente apremiante. Considerando que la anticoncepción es una necesidad de salud global, aunque, por diferentes razones en diferentes partes del mundo, el mercado total para la anticoncepción masculina podría ser mucho mayor que la tomada en cuenta para las cifras en los Estados Unidos solamente.

20 En el mundo occidental, el mercado para los anticonceptivos ha cambiado relativamente poco en los últimos 50 años, habiéndose desarrollado "la píldora" en 1951 y permaneciendo sin precedentes como la selección popular para la anticoncepción. Los avances en la investigación en anticoncepción han ofrecido solamente algunas opciones más, todas para mujeres, quienes han llevado históricamente el castigo de la responsabilidad, el coste y el riesgo para la salud (en particular, riesgos de enfermedades cardiovasculares y ciertos tipos de cánceres asociados con el uso a largo plazo de anticonceptivos basados en hormonas) de la anticoncepción. El condón, inventado en el siglo XVI, es la única forma significativa de anticoncepción disponible para los hombres (distinto de la "marcha atrás" y la vasectomía). La única mejoría innovadora real que ha aparecido con el condón vino con la vulcanización del caucho en el siglo XIX (From New Scientist, 20 de abril de 1994, Vol. 142, N° 1923).

25 Conforme las compañías farmacéuticas desarrollan compuestos para la disfunción sexual (por ejemplo, Viagra para la disfunción eréctil), se espera que crezca la demanda de anticonceptivos. Las ventas de condones en Estados Unidos se elevaron el 5,8% durante 1999, generando 260 millones de dólares de ingresos, reflejando lo que alguien ha llamado una nueva Revolución Sexual Americana². Aunque la mayoría de las mujeres en edad fértil ya practican la anticoncepción³, aún la mitad de todos los embarazos son no deseados. Existe una petición persistente por parte de grupos de salud y consumidores de más alternativas, en particular de alternativas que permitan a los hombres asumir una mayor parte de responsabilidad anticonceptiva. Las preocupaciones globales conducen a organizaciones, tales como la Organización Mundial de la Salud y Salud Familiar Internacional a lanzar iniciativas que apuntan a fomentar el desarrollo de anticonceptivos para hombres. Al menos dos compañías, Schering y Organon, están investigando extensamente para llevar al mercado un anticonceptivo hormonal masculino en esta década.

²Drug Store News, 29 de nov., 1999 v21 il9 pág. 29)

45 ³el 58% de todas las mujeres casadas en el mundo en edad reproductiva usan algún tipo de procedimiento anticonceptivo (The Population Division of the United Nations Department of Economic and Social Affairs 2000).

⁴NICHD, Contraception and Reproductive Health Branch: Report to the NACHHD Council September 1999.

50 Se han buscado fármacos anticonceptivos para hombres activos oralmente seguros y eficaces durante muchos años. Sin embargo, el desarrollo de un fármaco que pueda interrumpir la espermatogénesis de manera segura sin afectar la libido y por lo tanto la función como un agente anticonceptivo para hombres ha probado ser una tarea difícil.

55 Un anticonceptivo ideal para los hombres podría ser uno que detenga de forma eficaz la producción de espermatozoides, bloquee su capacidad fertilizante sin afectar la libido u órganos sexuales accesorios y sus funciones, y/o mate los espermatozoides móviles. Además de eso debe tener una amplia separación de dosis eficaces y tóxicas y el procedimiento debe ser reversible. Actualmente, no está disponible un agente anticonceptivo ideal de este tipo.

- Algunos intoxicantes celulares en general tales como agentes anti-cáncer y agentes de alquilación afectan a la espermatogénesis, pero, obviamente, no son aceptables como anticonceptivos. Los compuestos que interfieren con los procesos de energía celular, tales como tioazúcares, también interfieren en la espermatogénesis, pero no son suficientemente selectivos. Los andrógenos, tales como la testosterona y sus análogos, cuando se dan en dosis suficientemente altas, interfieren con la espermatogénesis, probablemente a través de un mecanismo que involucra el eje hipotalámico-pituitaria. Estos compuestos esteroides se han usado con éxito en estudios clínicos. Sin embargo, las propiedades anabólicas de estos esteroides pueden dar origen a efectos secundarios indeseables.
- 5
- 10 Los análogos de la hormona liberadora de gonadotropina (GNRH) se han investigado activamente como compuestos que bloquean de forma eficaz la espermatogénesis. Sin embargo, los análogos de GNRH interfieren con la producción endógena de testosterona y por lo tanto disminuyen la libido, a menos que se administren andrógenos suplementarios.
- 15 Un enfoque para los anticonceptivos para hombres se basa en la identificación y explotación de la bioquímica del proceso reproductivo masculino. El testículo consiste en tres compartimientos funcionales. El primero, responsable de la producción de esperma, consiste en túbulos seminíferos que contienen células de germen en desarrollo. El segundo es la célula Sertoli, también situada dentro del túbulo seminífero, que contribuye a la coordinación de organización y funcional del proceso espermatogénico y probablemente tiene papeles de paracrina y autocrina.
- 20 Debido a la compleja relación de organización entre la célula de Sertoli, se forma una barrera de sangre-testículo, dividiendo el túbulo seminífero en áreas que están aisladas del acceso directo por productos químicos o nutrientes de la sangre. Rodeando los túbulos, en el tejido intestinal, están las células de Leydig que tienen varias funciones endocrinas y paracrinas, siendo la producción de testosterona la mejor descrita.
- 25 Las células germinales se dividen y se diferencian progresivamente, moviéndose conforme maduran desde la membrana de base al lumen del túbulo. La espermatogonia cae en el compartimiento basal, y la espermatogonia reclutada selectivamente se divide mitóticamente para convertirse en células que persisten como espermatogonia o diferenciarse en espermátocitos primarios. Los espermátocitos primarios migran a través de las uniones entre las células de Sertoli y se dividen meióticamente para formar espermátocitos secundarios. Los espermátocitos secundarios se dividen para formar espermátidas. A menudo, la diferenciación de las espermátidas se denomina espermatogénesis. Sin embargo, para los fines de esta solicitud, "espermatogénesis" se define para incluir el proceso entero de formación y maduración (diferenciación) de esperma y un "compuesto antiespermatogénico" es uno que interrumpe cualquier parte de este proceso.
- 30
- 35 Un resumen de las funciones de las células de Sertoli es el que se indica a continuación: (a) soporte y nutrición para el epitelio seminífero, (b) liberación de espermátidas tardíos al lumen del túbulo, (c) formación de una barrera de sangre-testículos morfológica y fisiológica, (d) fagocitosis de células de germen degenerativas, y (e) regulación del ciclo de epitelio seminífero.
- 40 La célula de Leydig también soporta la espermatogénesis. La hormona luteinizante (HL) de la pituitaria estimula la producción de testosterona mediante las células de Leydig. La testosterona y su metabolito, dihidrotestosterona, son necesarios para soportar la espermatogénesis normal. Los receptores de testosterona están presentes en diversos tipos de células de germen. La testosterona se entrega a través de la barrera de sangre-testículo, probablemente a través de transporte a la célula de Sertoli, donde se metaboliza en estradiol, dihidrotestosterona, o permanece sin alterar.
- 45
- Algunos, si no todos los tipos de células de germen, interactúan con las células de Leydig y/o de Sertoli. Estas interacciones están en forma de mensajeros químicos que se producen por las células de Sertoli, Leydig y de germen. Por ejemplo, el espermátocito paquitenio modula la secreción de un factor proteínico de células de Sertoli que, a su vez, estimula la esterodogénesis mediante la célula de Leydig. La unión de espermátidas se da únicamente en células de Sertoli que se han hecho competentes o funcionales mediante exposición a FSH. La célula de Sertoli de ratas secreta varias proteínas de forma cíclica, apareciendo la producción máxima en una etapa específica del epitelio seminífero; es decir, cuando está en asociación con un grupo específico de células de germen. La clusterina se produce principalmente por células de Sertoli cuando el epitelio seminífero está en una configuración de Fase VII o VIII que es independiente de la estimulación de FSH, sugiriendo una regulación local de la función de secreción de Sertoli por células de germen.
- 50
- 55

El compuesto de hexahidroindenopiridina N° 20-438 desarrollado por Sandoz, Ltd. (compuesto 1 en la Figura 1) ha demostrado que proporciona una inhibición reversible de espermatogénesis en administración oral a animales.

Véase Arch. Toxicol. Suppl., 1978, 1: 323-326; y Mutation Research, 1979, 66: 113-127.

5 La síntesis de una diversidad de compuestos de indenopiridina en forma de mezclas racémicas se conoce y describe, por ejemplo, en las Patentes de Estados Unidos N° 2.470.108; 2.470.109; 2.546.652; 3.627.773; 3.678.057; 3.462.443; 3.408.353; 3.497.517 3.574.686; 3.678.058 y 3.991.066. Estos compuestos de indenopiridina tienen una diversidad de usos incluyendo su uso como antagonistas de serotonina mostrando propiedades antiflogísticas y analgésicas, inhibidores de la agregación de hematoblastos, sedantes, y compuestos neurolépticos, así como compuestos protectores contra úlceras, hipotensivos y anorexigénicos.

10 Las patentes de Estados Unidos N° 5.319.084 y 5.952.336 describen compuestos de hexahidroindenopiridina que tienen actividad antiespermatogénica en los que la posición 5 está sustituida con un anillo fenilo que tiene un sustituyente en la posición para.

15 A pesar de la extensa investigación en este campo, sigue existiendo la necesidad de fármacos activos contra la fertilidad masculina reversibles que tengan efectos secundarios limitados. Un problema persistente es la necesidad de administrar compuestos conocidos a niveles de dosificación que puedan causar efectos secundarios. Un problema adicional en este campo es la carencia de agentes de imagen adecuados que tengan sitios de unión específicos sobre o en los testículos. Continúa existiendo la necesidad de compuestos que puedan usarse como agentes de imagen en el estudio de la función testicular y en el diagnóstico de trastornos testiculares.

20 Además de los anticonceptivos orales para hombres, existe la necesidad de composiciones espermicidas más eficaces para uso como prácticas anticonceptivas tópicas/externas tradicionales.

25 **Resumen de la invención**

Un objeto adicional de la presente invención es proporcionar una composición que actúa como un espermicida, matando el esperma móvil, por lo tanto siendo eficaz como un agente anticonceptivo para su aplicación externa.

30 También se describe una composición que actúa como una composición antifúngica pero no atañe a la presente invención.

35 Se han conseguido estos y otros de los objetos de la presente invención mediante el descubrimiento de los compuestos de hexahidroindenopiridina de la presente invención y el descubrimiento de que estos compuestos son altamente potentes, interrumpen la espermatogénesis y actúan como un espermicida sobre el esperma móvil.

40 Los compuestos de la presente invención resuelven los problemas que se han indicado anteriormente. Los compuestos de la invención muestran una alta potencia en dosificaciones relativamente más bajas que el compuesto 1 conocido y reducen la aparición de efectos secundarios, tales como los efectos sedantes observados con este compuesto. Además, los compuestos de la invención interactúan con un sitio macromolecular en los testículos. Los compuestos de la invención que contienen una etiqueta, tal como una etiqueta radioactiva, superan el problema de agentes de imagen inadecuados mediante la provisión de un agente de imagen que es útil en el estudio de la función testicular y la diagnosis de la disfunción testicular. También se ha descubierto que los compuestos de la presente invención actúan como un agente espermicida, que matan el esperma móvil de una manera altamente eficaz y eficiente, lo que sugiere su uso en una diversidad de composiciones espermicidas. También se ha descubierto que los compuestos de la presente invención actúan como un antifúngico.

45 **Breve descripción de los dibujos**

50 La Figura 1 muestra la estructura de tres compuestos de hexahidroindenopiridina e indica el sistema de numeración para estos compuestos.

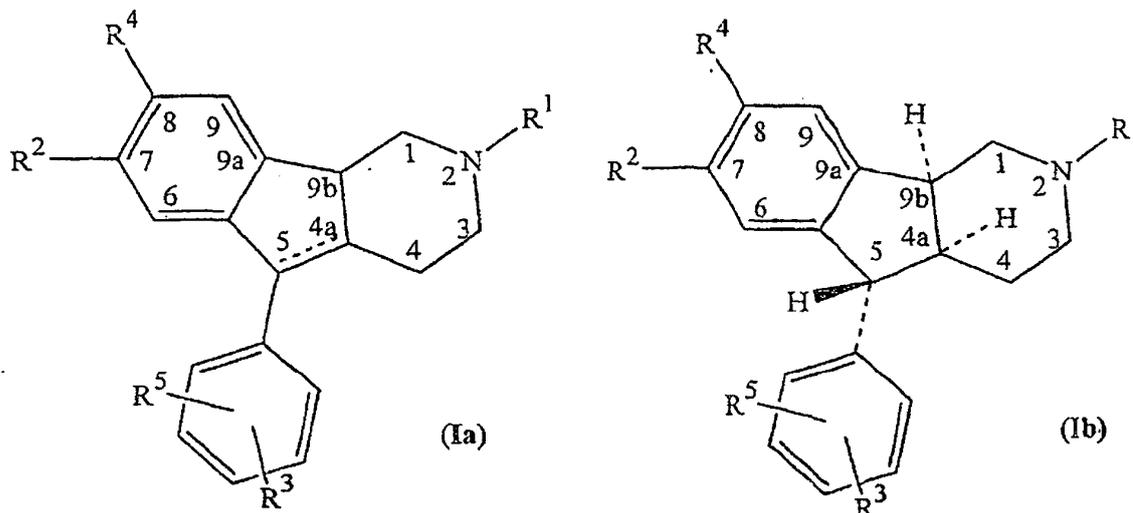
La Figura 2 muestra un proceso para preparar precursores de los compuestos de la presente invención.

55 La Figura 3 muestra una síntesis enantioselectiva de compuestos precursores a los compuestos de la invención.

La Figura 4 muestra un esquema sintético para yodar los compuestos precursores preparados como se muestra en las Figuras 2 y 3 y la conversión de los compuestos de yodo en compuestos adicionales dentro del alcance de la invención.

Descripción detallada de la invención

Actualmente, se ha descubierto que los compuestos de hexahidroindeno[1,2-b]piridina que tienen la estructura I(a) mostrada a continuación, preferentemente que tienen la estructura mostrada en I(b) a continuación:



5

en las que los átomos de hidrógeno en las posiciones 4a, 5 y 9b tienen la estereoquímica relativa mostrada (los átomos de hidrógeno en las posiciones 4a y 5 son trans, los átomos de hidrógeno en 4a y 9b son cis entre sí; Fórmula I(b)); o la estereoquímica relativa en la posición 9b puede invertirse a fin de que los átomos de hidrógeno en las posiciones 4a y 5 sean trans, los átomos de hidrógeno en 4a y 9b sean trans entre sí; o los tres átomos de hidrógeno puedan ser cis entre sí; o

10

en las que la línea discontinua entre 4a y 5 indica que el compuesto puede ser también el compuesto 4a,5-deshidro, teniendo de este modo un doble enlace entre los átomos de carbono 4a y 5 y en las que R¹ es hidrógeno o alquilo C₁₋₆ de cadena lineal o ramificada, preferentemente alquilo C₁₋₃; R³ y R⁵ son independientemente hidrógeno, halógeno, SO₃H, alquilo C₁₋₆ de cadena lineal o ramificada, CH₂OH, CH₂OMe, alcoxi C₁₋₆ de cadena lineal o ramificada, carboxil (COOH) o un grupo que puede convertirse en las condiciones fisiológicas de un mamífero en un grupo carboxilo, éster del ácido carboxílico (COOR, en el que R es alquilo C₁₋₁₀, arilo C₆₋₁₀, aralquilo C₇₋₁₀), hidroximetil éster (CH₂OC(O)--R, en el que R es como se ha definido anteriormente), CONH₂, CONHR, CONR₂, CH₂OCONHR, CN, CH=NHNHCONH₂ y halógeno; y R⁴ es hidrógeno, halógeno, R₃Si o COR no son solamente antiespermatogénicos y tienen actividades tan altas como 40 veces la actividad antiespermatogénica oral de los compuestos mejor conocidos como se indica en la patente de Estados Unidos anterior N^o 5.319.084, sino que también actúan como espermicidas para matar el espermia móvil.

15

20

En el contexto de la presente invención, el término "antiespermatogénico" se refiere a la capacidad de alterar la producción de espermia en los testículos, mientras que el término "espermicida" se refiere a la capacidad de matar el espermia móvil después de su producción y, más preferentemente, después de la eyaculación.

25

Los compuestos de la presente invención tienen la estereoquímica relativa mostrada en la estructura (I). Esta invención incluye tanto las formas enantioméricas individuales (básicamente ópticamente puras), así como también cualquier mezcla de estas formas, por ejemplo, una mezcla racémica.

30

Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos que tienen la estructura (I) que se han mostrado anteriormente también se incluyen en esta invención. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen, pero sin limitación, sales de un grupo funcional básico (tal como, pero sin limitación, un grupo amina) con ácidos inorgánicos, tales como clorhídrico, yodhídrico, sulfato, fosfato, difosfato, bromhidrato y nitrato o sales del grupo funcional básico con un ácido orgánico, tales como acetato, malato, maleato, fumarato, tartrato, succinato, citrato, lactato, metanosulfonato, p-toluenosulfonato, palmoato, salicilato y estearato; o sales de un grupo funcional ácido con iones de metales, tales como (pero sin limitación) Na, K, Ca o sales de un grupo funcional ácido con el ión de amonio, o

35

sales de un grupo funcional ácido con iones orgánicos, tales como (pero sin limitación) aminas e iones de amonio tetrasustituidos.

5 El sustituyente R¹ es preferentemente un grupo alquilo (n-alquilo) de cadena lineal, iso-alquilo o cicloalquilo, tal como metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo, n-pentilo, isopentilo, n-hexilo, isohexilo, ciclopropilo, ciclopentilo o ciclohexilo. Más preferentemente, R¹ es etilo.

10 El sustituyente R² también es preferentemente un grupo de cadena lineal o isoalquilo como se ha descrito anteriormente para R¹.

15 El sustituyente R³ está preferentemente en la posición para o 4 del anillo y es preferentemente un grupo seleccionado entre hidroximetil (CH₂OH), formil (CHO), carboxil (COOH), éster del ácido carboxílico (COOR, en el que R es alquilo C₁₋₁₀, arilo C₆₋₁₀, aralquilo C₇₋₁₀) y hidroximetil éster (CH₂OC(O)--R, en el que R es como se ha definido anteriormente), CONH₂, CONHR, CONR₂, CH₂OCONHR, CN, CH=NHNHCONH₂ y halógeno.

20 El sustituyente R⁴ es preferentemente halógeno incluyendo I, Br, Cl y F. La potente actividad de estos compuestos es sorprendente. El halógeno puede ser un isótopo radioactivo, por ejemplo, ¹²³I, ¹²⁵I o ¹³¹I. Otros isótopos radioactivos, tales como por ejemplo, ¹¹C, tritio (³H) o ¹⁸F, o isótopos radioactivos de bromo y cloro, pueden estar sustituidos por los isótopos habituales (no radioactivos) en los compuestos anteriores.

25 El compuesto 1 es una mezcla racémica. La estructura del compuesto 1 se muestra en la Figura 1, compuesto 1. Las hexahidroindenopiridinas tienen tres centros asimétricos que pueden definirse usando la nomenclatura conocida. Como alternativa, la estereoquímica relativa puede definirse mediante las relaciones cis-trans de los átomos de hidrógeno unidos al sistema de carbonos en las posiciones 4a, 5 y 9b del sistema de anillos tricíclico, conduciendo a asignaciones estereoquímicas. Siguiendo la nomenclatura Cahn-Ingold-Prelog, la estereoquímica y el nombre del compuesto 1 es (4aRS,5SR,9bRS)-2-etil-2,3,4,4a,5,9b-hexahidro-7-metilo-5-(4-metilfenil)-1H-indeno [1,2-c]piridina.

30 El compuesto 1 tiene un sustituyente metilo hidrófobo en el grupo 5-fenilo correspondiente al sustituyente R³ en la estructura (I) que se ha mostrado anteriormente. La actividad antiespermatogénica del compuesto 1 reside básicamente de manera exclusiva en el isómero (+) (la rotación óptica es dextrógira cuando se mide en las condiciones descritas en Cook y col., 1995), que es un fármaco antiespermatogénico eficaz en ratones. La actividad antiespermatogénica de otros compuestos de esta serie también reside básicamente de manera exclusiva en un isómero óptico. Sin embargo, la rotación óptica medida de estos compuestos puede ser (+) o (-), dependiendo del patrón de sustitución y las condiciones de medición, como se sabe por los expertos en estereoquímica. Por otra parte, las propiedades antifúngicas de los compuestos de la presente invención no son estereoespecíficas, con ambos isómeros (+) y (-) activos, aunque sus actividades relativas pueden diferir.

40 Los efectos espermicidas de los compuestos de la presente invención se han descubierto en los isómeros antiespermatogénicos y se cree que están presentes también en otros isómeros.

45 El grupo o grupos carboxilo muy polares que pueden metabolizarse en las condiciones fisiológicas de un mamífero en un grupo carboxilo puede estar presente en cualquier posición, preferentemente la posición para del anillo 5-fenilo de los compuestos de la invención con retención de actividad espermicida y/o antifúngica. Por ejemplo, los compuestos en los que la posición para está sustituida con grupos hidroximetil (CH₂OH), formil (CHO), carboxil (COOH) y metoxicarbonil (C(O)OCH₃) retienen la potente actividad. Estos compuestos muestran actividad a pesar de la presencia de un sustituyente polar en la posición para del anillo 5-fenilo.

50 Por "metabolizado en las condiciones fisiológicas de un mamífero" se refiere a un grupo funcional R³ que se convierte en un grupo carboxilo cuando se administra un compuesto que tiene la estructura (I) a un mamífero vivo para el que se desea un tratamiento antiespermatogénico. La administración puede ser mediante cualquier medio o vía convencional, incluyendo, pero sin limitación, oral, intraperitoneal, intravenosa, subcutánea, intramuscular, inhalación, bucal y penetración en la piel. Estas mismas vías de administración están disponibles para tratamientos espermicidas y/o antifúngicos, junto con la administración tópica. La conversión del grupo R³ en un grupo carboxilo se determina rápidamente controlando los metabolitos del compuesto que tiene la estructura (I) en la sangre o en la orina. Los metabolitos pueden controlarse usando procedimientos de análisis convencionales, tales como espectrometría de masas (EM), cromatografía de gases (CG), etc.

Preferentemente, al menos el 50%, más preferentemente al menos el 80% e incluso más preferentemente el 90%, 95% o 100% de los grupos funcionales R³ se metabolizan en un grupo carboxilo tras su administración al mamífero, aunque esto no es necesario para obtener propiedades espermicidas y/o fungicidas. El porcentaje de conversión puede determinarse analizando cuantitativamente una muestra de sangre u orina para determinar las cantidades relativas de compuestos no convertidos que contienen el grupo funcional R³ con respecto a compuestos en los que el R³ se ha convertido en un grupo carboxilo usando uno de los procedimientos de análisis convencionales que se han indicado anteriormente.

La actividad antiespermatogénica del compuesto 1 se observa después de una sola dosis oral de 30 mg/kg a ratas, reduciendo drásticamente los pesos de los testículos en 24 horas. Se observan cambios degenerativos en los túbulos seminíferos. Los espermátidas se vuelven picnóticas, formando ocasionalmente asociaciones multinucleadas. Las células de Sertoli parecen ser citológicamente normales. Parece que el compuesto 1 se dirige a espermátidas o la célula de Sertoli asociada con estas espermátidas ya que se observan cambios histológicos en estas espermátidas en primer lugar.

El compuesto 1 causa algo de letargo y sedación en ratones a una dosis oral de 30 mg/kg y letargo extremo en la misma dosis administrada por vía subcutánea. Obviamente, el letargo y sedación son efectos secundarios indeseables en los agentes anticonceptivos. A diferencia del letargo y la sedación observados con el compuesto 1, los compuestos de la presente invención producen un letargo mínimo.

Los compuestos de la presente invención permiten separar la actividad anti-fertilidad de la actividad sedante observada con el compuesto 1. Por lo tanto, los compuestos de la invención son fármacos anti-fertilidad eficaces en los que los efectos secundarios de sedación y letargo indeseados se disminuyen notablemente.

Los compuestos de la invención se probaron en ratones para observar sus efectos sobre la espermatogénesis tres días después de una sola dosis oral mediante el procedimiento descrito en Cook y col., (1995) a continuación. Los compuestos activos en este ensayo también han demostrado ser compuestos anti-fertilidad.

Se exploraron compuestos para comprobar su actividad antiespermatogénica mediante la dosificación de ratones macho en el día 1 con una dosis administrada a la fuerza de vehículo de control, control positivo (compuesto 1) o un compuesto de la invención. A las 72 horas tras la dosificación, los animales se sacrificaron y se extirparon los testículos, se recortó la grasa y se pesaron. Se examinó un testículo histológicamente y se clasificó por su potencial espermatogénico usando el Índice Espermatogénico (J.M. Whitsett, P.F. Noden y A.D. Lawton, J. Reprod. Fertil., 72, 277 (1984), que es una estimación semicuantitativa de la capacidad de producción de esperma de los testículos. El índice se basa en el aspecto histológico de las células espermatogénicas en los túbulos seminíferos. Se usa una escala de 1 a 6 siendo el estatus normal de 5 a 6. Una segunda valoración se basó en el peso de los testículos.

Las Tablas 1 y 2 muestran los resultados biológicos pertinentes en cuando a los cambios en el peso de los testículos (PT) y el índice espermatogénico (IE) con respecto a un control que contiene únicamente el vehículo de administración, pero no indenopiridina. En las Tablas 1 y 2, R³ y R⁴ se refieren a estructuras Ib, en las que R³ está en la posición *para*; R¹ es etilo; R² es metilo; y R⁵ es hidrógeno.

Con un patrón de sustituyente 8-yodo-7-metil-4'-carboxi o 4'-carbometoxi, una dosis oral de 2 µmol/kg (1 mg/kg) del racemato dio como resultado una disminución del 57-67% en el índice espermatogénico y fue por lo menos tan efectivo como una dosis de 79 µmol/kg (30 mg/kg) del análogo correspondiente sin el sustituyente 8-yodo. En el caso del análogo 8-bromo u 8-cloro, la dosis más baja probada (6 o 2 µmol/kg; o 3 o 1 mg/kg) también fue tan eficaz como la dosis de 79 µmol/kg (30 mg/kg) del análogo no halogenado (véase la Tabla 1). La comparación del enantiómero (levo) activo del análogo 8-yodo-7-metil-4'-carbometoxi con el enantiómero activo del análogo 8-H-7-metil-4'-carbometoxi (Tabla 2) mostró que el primer compuesto tiene el mismo efecto o un efecto mayor a 0,6 y 2 µmol/kg (0,3 y 1 mg/kg) que el último compuesto a 25 y 75 µmol/kg (10 y 30 mg/kg). Por lo tanto, se consiguió un aumento de aproximadamente 40 veces en potencia molar mediante la halogenación de la posición 8.

TABLA 1
EL EFECTO ANTIESPERMATOGÉNICO DE COMPUESTOS RACÉMICOS DE INDENOPIRIDINA EN RATONES SUIZOS MACHOS ADULTOS^a

Comp.	R ³	R ⁴	Dosis (mg/kg)	Cambio del PT ^b (%)	Cambio del IS ^c (%)
1	Me	H	30	19%*	-55%*
2	CO ₂ H	H	10	2%	-24%*
2	CO ₂ H	H	30	-7%	-52%*
18	CO ₂ Me	I	1	-16%	-57%*
18	CO ₂ Me	I	3	-27%*	-69%*
18	CO ₂ Me	I	10	-36%*	-74%*
17	CO ₂ H	I	1	-18%	-67%*
17	CO ₂ H	I	3	-9%	-66%*
17	CO ₂ H	I	10	-32%*	-76%*
19	CO ₂ H	Br	3	-8%	-69%*
19	CO ₂ H	Br	10	-28%*	-71%*
19	CO ₂ H	Br	30	-39%*	-72%*
20	CO ₂ H	Cl	1	-16%	-55%*
20	CO ₂ H	Cl	3	-23%	-66%*
20	CO ₂ H	Cl	10	-22%	-72%*

^a Los valores se calculan de la media (n = 5) como [100(control de ensayo)/control].

Solamente se muestra la dosis más alta para los compuestos que estaban inactivos.

Se dio una sola dosis de indenopiridina o vehículo a ratones mediante alimentación forzada de 10 ml/kg.

El vehículo era agua al 90%, Tween20 al 7% y etanol al 3%.

La necropsia se realizó el día 3, empezando aproximadamente 72 horas después de la dosificación.

^b Peso de testículos [% de cambio del vehículo control de 217,8 +/- 46,0 (S.E.) mg].

^c índice Espermatogénico [% de cambio del vehículo control de 5,8 +/- 0,2 (S.E.)].

* Significativamente diferente del vehículo control; prueba T de una cola de Dunnett, p <0,05.

Se realizó un análisis estadístico sobre los datos sin procesar antes de la conversión en % de cambio.

TABLA 2

EL EFECTO DE LA 8-YODACIÓN SOBRE EL EFECTO ANTIESPERMATOGÉNICO DE COMPUESTOS DE INDENOPIRIDINA QUIRAL EN RATONES SUIZOS MACHOS^a (EL COMPUESTO 1 ES EL RACEMATO; LOS COMPUESTOS 3 Y 18 SON LOS ISÓMEROS LEVOGIRATORIOS (1))

Comp.	R ³	R ⁴	Dosis (mg/kg)	Cambio del PT ^b (%)	Cambio del IS ^c (%)
1	Me	H	30 ^d	-24%*	-61%*
3(1)	CO ₂ Me	H	1	8%	3%
3(1)	CO ₂ Me	H	3	-12%	-2%
3(1)	CO ₂ Me	H	10 ^e	-13%	-33%*
3(1)	CO ₂ Me	H	30	-30%*	-64%*
18(1)	CO ₂ Me	I	0,3	-11%*	-34%*
18(1)	CO ₂ Me	I	1	-21%*	-66%*
18(1)	CO ₂ Me	I	3	-27%*	-71%*
18(1)	CO ₂ Me	I	10 ^e	-31%*	-72%*

^a Los valores se calculan de la media (n = 5) como [100(control de ensayo)/control].

Se dio una sola dosis de indenopiridina o vehículo a ratones mediante alimentación forzada de 10 ml/kg.

La necropsia se realizó el día 3, empezando aproximadamente 72 horas después de la dosificación.

El vehículo era Tween20 al 1% en agua.

^b Peso de testículos (% de cambio del vehículo control de 227,5 +/- 8,6 mg).

^c índice Espermatogénico (% de cambio del vehículo control de 5,7 +/- 0,2).

^d n = 6

^e n = 4

* Significativamente diferente del vehículo control; prueba T de una cola de Dunnett, p <0,05.

Se realizó un análisis estadístico sobre los datos sin procesar antes de la conversión en % de cambio.

5

La actividad espermicida de los compuestos de la presente invención está presente significativamente con solamente una sola aplicación de composición al eyacular, teniendo la composición una concentración de solamente

3 μM , disminuyendo la movilidad, cayendo la movilidad a cero después de la aplicación de la composición de los presentes compuestos que tienen una concentración de solamente 100 μM . La composición espermicida de la presente invención puede tener cualquier concentración suficiente para disminuir la movilidad de los espermatozoides hasta un nivel insuficiente para causar impregnación, preferentemente, una concentración de 1-500 μM , más preferentemente de 3-300 μM , mucho más preferentemente de 10-200 μM . La actividad espermicida se determinó mediante el procedimiento descrito a continuación.

Procedimiento para determinar el efecto directo de un agente sobre la movilidad del esperma

10 El efecto directo de un agente sobre la movilidad del esperma se determinó usando los siguientes protocolos. Básicamente, se obtuvo esperma de la cola del epidídimo, como en el caso de la rata, o de esperma eyaculado recogido usando una vagina artificial, como en el conejo. La movilidad inicial del esperma se determina manualmente o usando un analizador de esperma Hamilton Thorn IVOS. Después, el esperma se mantiene a una temperatura constante de 34°C, se diluye a una concentración consistente de $10 \times 10^6/\text{ml}$ y se añade a aproximadamente 3 ml de tampón o medio. La movilidad se determina de nuevo en este momento y se registra cualquier cambio. Después, a la preparación del esperma se le añaden diferentes concentraciones del agente que se va a ensayar. Después, las muestras de esperma se mantienen a la misma temperatura durante una hora y se determina la movilidad. Los resultados se registran como el porcentaje de esperma móvil en la muestra.

20 Protocolo para la determinación de un efecto directo de un agente sobre la movilidad del esperma

General:

25 El esperma se mantuvo a 34°C en todo el periodo experimental. La concentración del esperma fue de aproximadamente $10 \times 10^6/\text{ml}$ (nota, la muestra pudo haber sido diluida con tampón o medio para alcanzar esta concentración).

Para los estudios en ratas: (usando esperma de la cola del epidídimo)

30 Se preparó una reserva 1 mM de la indenopiridina en tampón HBSS + BSA (5 mg en 10 = 0,5 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$; 0,5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ = 1 μM) y se añadió como se indica a continuación:

35 1 μM = 1 μl de reserva + 949 μl de tampón HBSS + BSA + 50 μl del esperma diluido

3 μM = 3 μl de reserva + 947 μl de tampón HBSS + BSA + 50 μl del esperma diluido

10 μM = 10 μl de reserva + 940 μl de tampón HBSS + BSA + 50 μl del esperma diluido

40 30 μM = 30 μl de reserva + 920 μl de tampón HBSS + BSA + 50 μl del esperma diluido

100 μM = 100 μl de reserva + 850 μl de tampón HBSS + BSA + 50 μl del esperma diluido

45 300 μM = 300 μl de reserva + 650 μl de tampón HBSS + BSA + 50 μl del esperma diluido

1000 μM = 1000 μl de reserva + 50 μl del esperma diluido

La movilidad del esperma se determinó después de 1 hora.

50 Para los estudios en conejos: (Usando esperma eyaculado)

Se preparó una reserva 1 mM de la indenopiridina en medio M-199 con BSA (2,5 mg en 5 = 0,5 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$; 0,5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ = 1 μM) y se añadió como se indica a continuación:

55 1 μM = 1 μl de reserva + 949 μl de medio M-199 con BSA + 50 μl del esperma diluido

3 μM = 3 μl de reserva + 947 μl de medio M-199 con BSA + 50 μl del esperma diluido

10 μ M = 10 μ l de reserva + 940 μ l de medio M-199 con BSA + 50 μ l del esperma diluido

30 μ M = 30 μ l de reserva + 920 μ l de medio M-199 con BSA + 50 μ l del esperma diluido

5 100 μ M = 100 μ l de reserva + 850 μ l de medio M-199 con BSA + 50 μ l del esperma diluido

300 μ M = 300 μ l de reserva + 650 μ l de medio M-199 con BSA + 50 μ l del esperma diluido

1000 μ M = 1000 μ l de reserva + 50 μ l del esperma diluido

10 La movilidad del esperma se determinó después de una hora.

Se hicieron transparencias para determinar los cambios de morfología y se añadió eosina para determinar la muerte celular.

15 Los resultados de las pruebas espermicidas se muestran en la Tabla 3 (eyaculado de conejo) y la Tabla 4 (esperma de cauda de rata) a continuación.

Tabla 3. Movilidad de esperma de conejo

ID de eyaculado	Volumen eyaculado (ml)	Concentración de eyaculado ($\times 10^6$)	Movilidad inicial (%)	Movilidad (%) a los 60 minutos
Muestra Pura	0,7 + tampón	132	78,8	76,8
Control (1:10 de Diluido puro)			78,5	76,6
+ 1 μ M 073L				73,0
+ 3 μ M 073L				68,4
+ 10 μ M 073L				67,6
+30 μ M 073L				61,9
+ 100 μ M 073L				15,2
+300 μ M 073L				0
+1000 μ M 073L				0**

* Movilidad no progresiva - temblor

** El esperma parecía "desintegrarse" - las cabezas del esperma contienen muchas vacuolas y membranas que no siempre están intactas.

20

Tabla 4. Motilidad de esperma de cauda de rata

Control 0 μ M	Movilidad (%) a los 60 minutos
+ 1 μ M 073L	Movilidad progresiva
+ 3 μ M 073L	Movilidad progresiva-igual a control
+ 10 μ M 073L	Movilidad progresiva disminuida
+30 μ M 073L	Movilidad no progresiva - temblor
+ 100 μ M 073L	Igual que para 10 μ M
	Muerte

25 La actividad fungicida de los compuestos cuya actividad no atañe a la presente invención puede obtenerse en cualquier concentración suficiente para reducir el nivel fúngico hasta un nivel insuficiente para causar infección fúngica, y se obtiene preferentemente en concentraciones de 1-500 μ M, más preferentemente en concentraciones de 20-300 μ M, mucho más preferentemente de 20-200 μ M.

30 Se realizó un ensayo de susceptibilidad antifúngica siguiendo las directrices de NCCLS con modificaciones secundarias. En resumen, se preparó una suspensión de células de *Candida albicans* a partir de cultivos puros cultivados durante una noche en agar de extracto de levadura-malta (LM) a 35°C. Se eliminaron varias colonias pequeñas de una placa de agar de LM y se transfirieron a 5 ml de solución salina al 0,85%. Las células se suspendieron durante 15 segundos en agitación vorticial y la densidad celular de la suspensión resultante se determinó usando un espectrofotómetro. La densidad celular se ajustó mediante la adición de solución salina al 0,85% hasta que la transmitancia igualó a la de un patrón McFarland de 0,5 cuando se midió a una longitud de onda de 530 nm. Se diluyó una alícuota de esta suspensión 1:1000 en RPMI-MOPS para producir una suspensión de trabajo. Se obtuvo una suspensión similar de esporas de *Aspergillus fumigatus* usando esporas almacenadas a 40°C

35

en solución salina al 0,85%. Estas esporas se diluyeron en solución salina al 0,85% para igualar la transmitancia del patrón de McFarland. Después, esta suspensión se diluyó adicionalmente 1:50 en RPMI-MOPS para producir la suspensión de inoculación de trabajo.

- 5 Se hicieron diluciones seriadas de los compuestos de ensayo en RPMI-MOPS que contenía DMSO al 2%. Se añadió por duplicado una alícuota de cada dilución a los pocillos de una placa de microtitulación con un fondo plano de 96 pocillos estériles. Después, a cada pocillo se le añadió una alícuota de la suspensión celular de *C. albicans* o la suspensión de esporas de *A. fumigatus* para dar un volumen final de 200 µl. Después, las placas se incubaron a 350°C. Después de 19 horas de incubación, las placas inoculadas con *C. albicans* se observaron a simple vista para la determinación de la concentración mínima inhibidora (MIC), concentración para la que no se observó crecimiento. Se hizo una determinación similar para las placas con *A. fumigatus* después de 48 horas. Para todas las diluciones que no mostraron crecimiento del organismo de ensayo, la concentración fungicida mínima (MFC) se determinó sembrando en estrías 100 µl de medio de un pocillo representativo sobre una placa de agar de LM para hacer crecer *C. albicans* o una placa de agar de dextrosa de patata para *A. fumigatus*. Los números de unidades formadoras de colonias (CFU) se contaron y estos valores se usaron para calcular el porcentaje de supervivencia de las células o esporas en inoculación con respecto al número de CFU en la suspensión de inoculación de trabajo. La concentración fungicida mínima (MFC) fue la concentración más baja del compuesto de ensayo con un porcentaje de supervivencia de menos del 2%.
- 10
- 15
- 20 Los resultados de los ensayos de fungicidas se muestran en las Tablas 4 a 6 que se indican a continuación.

5
10
15
20

TABLA 4
ACTIVIDAD FUNGICIDA FRENTE A *C. ALBICANS*
C. albicans (19 horas)

Compuesto	Menor [Activo]	CFU para MFC			
-		300	200	100	
4587-006	300	Estática			
4587-029	200	Letal	Estática		
4587-055	300	Estática			
4587-054	ND				
4587-054d	ND				
4587-073d	100	Letal	Letal	Estática	
4587-0731	100	Letal	Letal	Letal	
4587-040	100	Letal	Letal	Letal	
4587-074	ND				
4587-0561	200	Letal	Letal		
4587-060	ND				
4587-037	300	Letal			
4587-065	ND				
4587-057	ND				
4587-064	100	Letal	Letal	Estática	

TABLA 5
ACTIVIDAD FUNGICIDA FRENTE A *A. FUMIGATUS*
C. fumigatus (48 horas)

Compuesto	Menor [Activo]	CFU para MFC	200	100
-		300		
4587-006	ND			
4587-029	100	Letal	Letal	Letal
4587-055	ND			
4587-054	ND			
4587-054d	ND			
4587-073d	100	Letal	Letal	Letal
4587-0731	100	Letal	Letal	Letal
4587-040	100	Letal	Letal	Letal
4587-074	ND			
4587-0561	100	Letal	Letal	Letal
4587-060	200	No ensayada	Letal	
4587-037	200	Estática*	Letal	
4587-065	ND			
4587-057	ND			
4587-064	100	Letal	Letal	Letal

NOTAS PARA LAS TABLAS 4-5

MFC = concentración mínima de fungicida

CFU = unidades formadoras de colonias

Letal => muertas al 98%

Estática = vista bien clara, pero <98% de *colonias muertas estaban muy cerca de obtener un buen recuento. Probablemente que estaban cerca de ser fungicidas.

Obsérvese que parecían ser un tipo de precipitado en el 073d y pocillos I. Quizás el PPT "atrapó" las esporas. Ningún otro compuesto mostró este PPT.

5

TABLA 6
COMPARACIÓN DE LOS MÁS ACTIVOS FUNGICIDAMENTE

Compuesto	<i>C. albicans</i>	<i>A. fumigatus</i>	Inferior MIC	Inferior MFC
	Inferior MIC	Inferior MFC		
4557-002d	50	fungistático	50	50
4587-0021	75	100	50	75
4587-003	50	75	25	25
4587-056d*	>100	ND	100	100
4587-061	50	75	25	25
4587-062*	20	20	10	10
4587-064	100	100	50	75
4587-082	>100	ND	100	100
AMP B	0,5		2	
Ketaconazol	32		8	

MIC = concentración más baja ($\mu\text{g/ml}$) que parece no tener crecimiento.

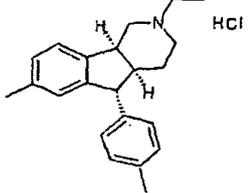
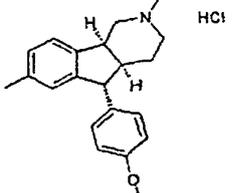
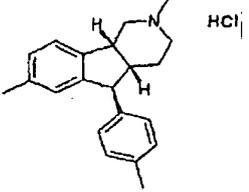
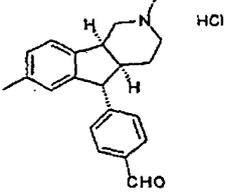
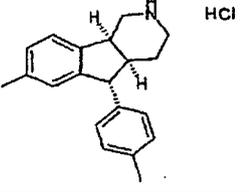
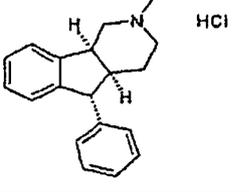
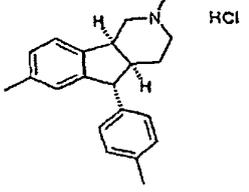
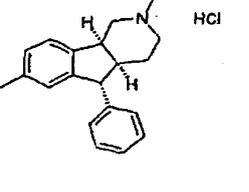
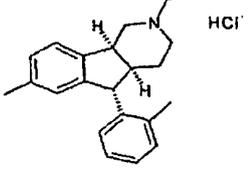
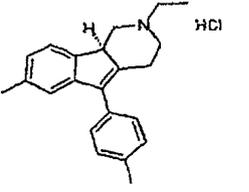
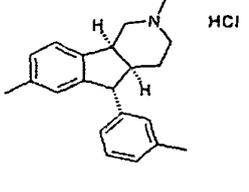
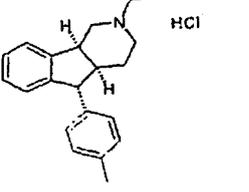
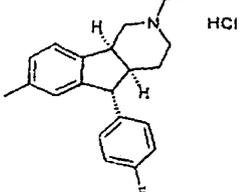
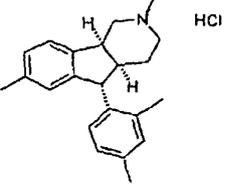
MFC = concentración más baja que mata $\geq 98\%$ de las células en el pocillo.

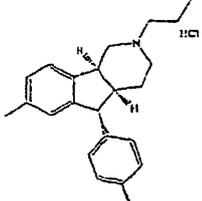
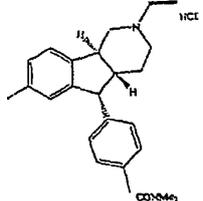
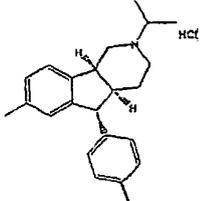
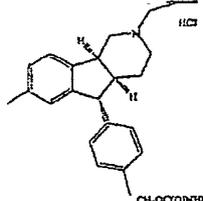
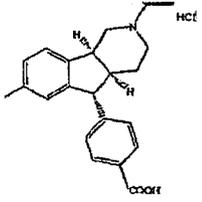
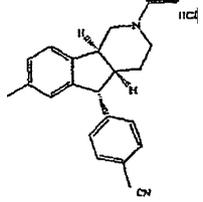
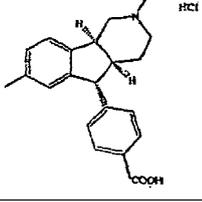
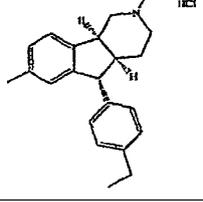
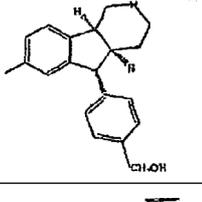
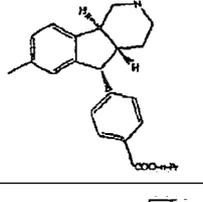
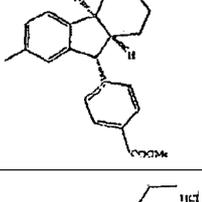
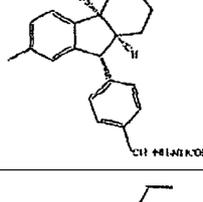
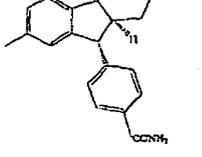
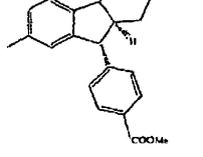
Fungistático = compuesto con un MIC, pero <98% de células muertas.

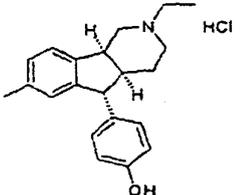
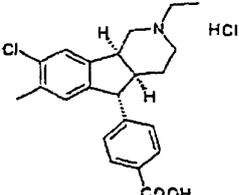
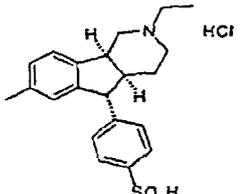
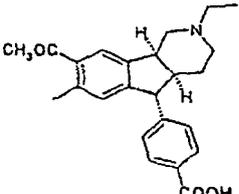
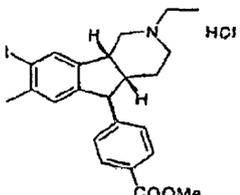
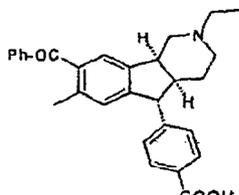
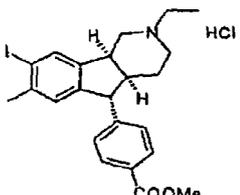
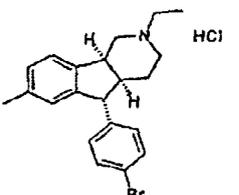
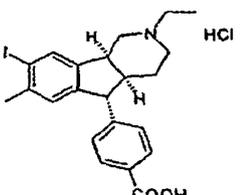
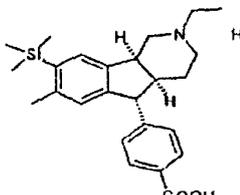
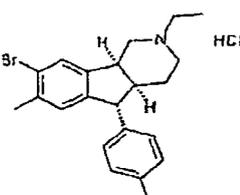
Negrita = compuesto activo solamente en *A. fumigatus*.

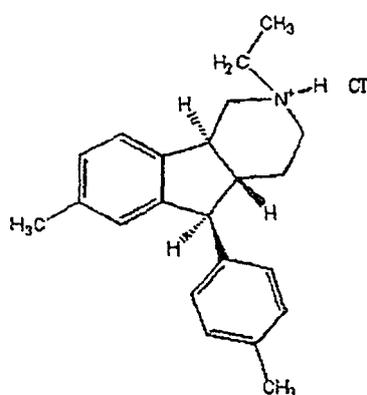
10 Concentración para 062: supone 0,1 mg en 50 μl de manera que las concentraciones finales de ensayo serán 1/5 de lo que se informó. No obstante, estas concentraciones son estimaciones aproximadas.

A continuación, se muestran los diversos compuestos usados en estos ensayos en las tablas anteriores:

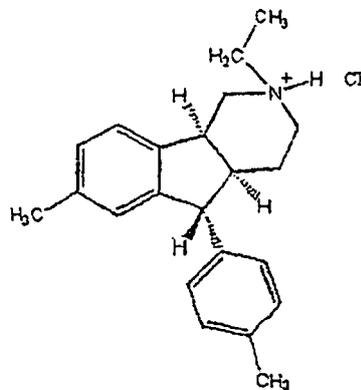
RTI-4587-02(d)		RTI-4587-29	
RTI-4587-02(l)		RTI-4687-30	
RTI-4587-10		RTI-4587-37	
RTI-4587-11		RTI-4587-38	
RTI-4587-24		RTI-4587-40	
RTI-4587-26		RTI-4587-41	
RTI-4587-28		RTI-4587-42	

RTI-4587-45		RTI-4587-58	
RTI-4587-46		RTI-4587-59	
RTI-4587-54		RTI-4587-60	
RTI-4587-54(d)		RTI-4587-61	
RTI-4587-55		RTI-4587-62	
RTI-4587-56(l)		RTI-4587-63	
RTI-4587-57		RTI-4587-64	

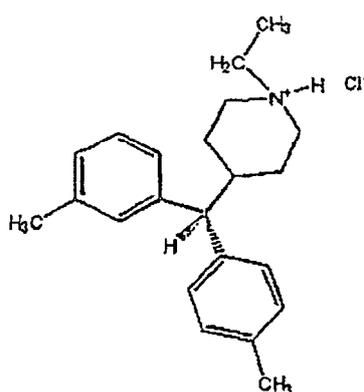
RTI-4587-65		RTI-4587-77	
RTI-4687-68		RTI-4687-78	
RTI-4587-73(d)		RTI-4587-79	
RTI-4587-73(l)		RTI-4587-80	
RTI-4587-74			
RTI-4587-75			
RTI-4587-76			



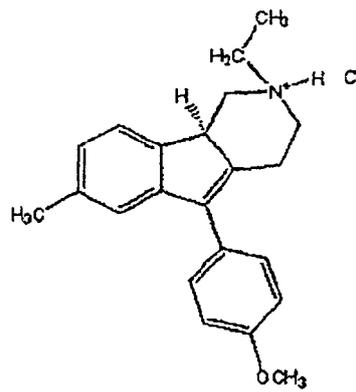
RTI-4587-003
(Estereoquímica relativa)



RTI-4587-002
(Estereoquímica relativa)



RTI-4587-006
RTI-4587-006
(Estereoquímica relativa)



RTI-4587-082
(Estereoquímica relativa)

- 5 Los precursores de los compuestos de la invención pueden prepararse mediante el procedimiento descrito en la patente de Estados Unidos N° 5.319.084 usando modificaciones del procedimiento descrito en la patente de Estados Unidos N° 3.678.057. Estas patentes se incorporan en el presente documento por referencia en su totalidad. Los sustituyentes R³ se introducen en la molécula usando un reactivo de Grignard apropiado o un reactivo de fenil litio. Las mezclas de enantiómeros producidas mediante este proceso se resuelven en enantiómeros puros mediante la formación de sales seguida de cristalización selectiva o cromatografía. Por ejemplo, la resolución del compuesto 1
- 10 puede realizarse mediante la formación de sal con ácido S(+) y R(-)-2,2'-(1,1'-binaftil)fosfórico y la resolución del compuesto 3 puede realizarse mediante formación de sal con ácido R- y S-mandélico como se describe en C.E. Cook y col., J. Med. Chem., 38: 753 (1995). La pureza óptica se establece por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) en una columna QUIRACEL-OD.
- 15 Los compuestos de esta invención pueden prepararse empezando con ácido carboxílico 2 o uno de sus ésteres (por ejemplo, 3). Los compuestos, tales como 2 y 3 se preparan como se describe en la Patente de Estados Unidos N° 5.319.084. Como alternativa, pueden prepararse mediante los procedimientos mostrados en la Figura 2, en los que un éster del ácido N-sustituido-3-arylhexahidropiridina-4-carboxílico (4) se hidroliza para dar el ácido carboxílico 5, que después se trata con cloruro de tionilo para dar el cloruro ácido 6. El tratamiento de este compuesto con AlCl₃ cicla el compuesto para dar la cetona tricíclica 7. La reacción de la cetona 7 con un haluro de fenil magnesio sustituido con p-halógeno o fenil litio sustituido con p-halógeno (4-bromofenil litio) forma el alcohol terciario
- 20

8, que tras el tratamiento con un trialquilsilano, por ejemplo un tri-alkil C_{1-6} silano, tal como trietilsilano y BF_3 , se reduce para dar el compuesto 9, que después se calienta a reflujo con una base fuerte (por ejemplo, KOH) en un disolvente de alcohol, preferentemente de alto punto de ebullición, tal como n-butanol para producir el compuesto de bromofenilo 10 que tiene la estereoquímica deseada. La conversión del grupo bromofenilo en un grupo litiofenilo, por ejemplo con un compuesto de $Li C_{1-6}$, y la carboxilación (CO_2) usando reactivos conocidos produce el ácido carboxílico 2, que puede esterificarse por medios convencionales bien conocidos en la técnica, por ejemplo la reacción con un alcohol C_{1-6} para obtener el éster 3.

La síntesis que se ha indicado anteriormente puede modificarse para proporcionar una síntesis enantioselectiva de los enantiómeros activos de los compuestos 2 y 3, que después pueden usarse para sintetizar los enantiómeros activos de la presente invención como se muestra en la Figura 3. Por lo tanto, un ácido 1,2,5,6-tetrahidropiridin-4-carboxílico N-sustituido (por ejemplo, 12) se convierte en su cloruro de ácido y el último compuesto se usa para acilar 1R(+)-(2,10)-alcanforsultama o 1S(-)-(2,10)-alcanforsultama. Cuando la enoilsultama (13) resultante se trata con un haluro de aril magnesio experimenta adición en 1,4 con alta selectividad diastereofacial para introducir un grupo arilo en la posición 3 en un elevado exceso enantiomérico. La cristalización produce el enantiómero 14. La función amida se hidroliza y después el adyuvante quiral puede recuperarse. Después, el ácido carboxílico se convierte en cetona tricíclica 7 como se ha descrito anteriormente. Este compuesto puede convertirse en básicamente 2 y 3 puros enantioméricamente mediante tratamiento con bromo fenil litio y las etapas posteriores como se muestra en la Figura 2. Como alternativa, la cetona quiral 7 puede convertirse en 2 y 3 enantioméricamente enriquecidos mediante el procedimiento descrito para la síntesis de racematos en la Patente de Estados Unidos N° 5.319.084. El grado de enriquecimiento depende del catalizador y la temperatura en la reducción del análogo enantiomérico de tetrahidro indenopiridina para dar el intermedio 5. Véase la Figura 3 de la Patente de Estados Unidos N° 5.319.084. Por lo tanto, hubo un 73% de exceso enantiomérico (ee) a 23°C con $PdCl_2/NaBH_4/3 atm$ de H_2 , pero racemización completa a 55°C; mientras que con $Pt/c/H_2$ el ee a 60°C fue comparable con el de a 23°C (67% y 70%, respectivamente).

El ácido carboxílico 2 o sus ésteres, tales como el éster metílico 3, pueden ser yodados para producir los análogos 8-yodo 17 y 18 mediante reacción con yodo en condiciones de oxidación o con una forma oxidada de yodo (Figura 4). Por ejemplo, la reacción de 3 con aproximadamente 1 mol de yodo en presencia de óxido de mercurio conduce a un alto rendimiento para el compuesto 8-yodo 18. El éster y el ácido son convertibles entre ellos mediante técnicas químicas convencionales bien conocidas en la técnica. Pueden usarse los racematos o los enantiómeros. También pueden usarse un isótopo radioactivo de yodo, tal como ^{125}I , ^{123}I o ^{131}I , para producir un análogo radio-etiquetado de 17 o 18. Dichos compuestos son útiles para determinar la ubicación y el sitio de acción de estos compuestos y pueden usarse como agentes de imagen para el diagnóstico de trastornos reproductivos en hombres.

Los compuestos de yodo, en particular el ácido 8-yodo 17, pueden convertirse en los de bromo y cloro mediante la formación de una sal de metal del ácido, por ejemplo, la sal sódica, y después mediante la formación de un intermedio de 8-metal en el que el metal es un metal tal como litio o un metal sustituido con reactivos conocidos, tales como t-BuLi. La reacción del intermedio de 8-metal con una fuente de halógeno, tal como hexacloroetano o 1,2-dibromoetileno conduce a los análogos 8-sustituidos correspondientes, tales como los compuestos 19 o 20 mostrados en la Figura 4. Los compuestos de fluoro correspondientes pueden prepararse haciendo reaccionar el intermedio de 8-metal con clorotrimetilsilano para formar el compuesto 8-trimetilsililo correspondiente y después haciendo reaccionar este compuesto con tetraacetato de plomo en presencia de $BF_3 \cdot Et_2O$. Véase De Mio y col., Tetrahedron, 1993, 49: 8129-8138.

Se pueden obtener análogos radiactivos de los diversos compuestos objeto, por ejemplo, tratando el intermedio de 8-metal con un reactivo que contenga un átomo de halógeno electrófilo como su isótopo radioactivo o, como se ha indicado anteriormente, pueden hacerse análogos radiactivos de los compuestos 17 o 18 mediante la sustitución de un isótopo radioactivo de yodo en la síntesis de los compuestos que se han descrito anteriormente. Puede obtenerse el compuesto tritio-etiquetado de la invención, por ejemplo, mediante reducción de los compuestos de 8-yodo con gas de tritio catalizado por un metal noble, tal como paladio o platino. Pueden prepararse los análogos de carbono 14, por ejemplo, usando dióxido de carbono etiquetado con ^{14}C en la etapa "g" de la síntesis del compuesto 2 como se muestra en la Figura 2. También pueden aplicarse otros procedimientos para etiquetarse isotópicamente los compuestos usados comúnmente en la técnica de la síntesis radioquímica.

Los compuestos de la presente invención son útiles como fármacos de anti-fertilidad masculina para controlar la fertilidad en mamíferos, incluyendo seres humanos. Además de su uso potencial en la planificación familiar, los compuestos de la invención también son útiles para controlar la fertilidad en animales domésticos, salvajes o silvestres, en los que no son prácticas o deseables las medidas letales. Por ejemplo, el control de las poblaciones de

5 ciervos es un problema en algunas áreas de los Estados Unidos. La administración oral de los compuestos de la presente invención para animales de reproducción estacional, tales como ciervos por medio de alimentos de los que contienen estos compuestos en momentos apropiados reduciría sustancialmente la capacidad reproductiva. Otros animales diana incluyen roedores, tales como ratones, ratas, perros de la pradera, etc., así como también cabras, cerdos o caballos salvajes, etc. La administración de los compuestos de esta invención a animales cautivos en zoológicos proporciona un medio de control de la reproducción en especies que se han vuelto sobrepobladas.

10 Por "controlar la fertilidad" como se usa en este documento, se refiere a reducir la capacidad reproductiva o fertilidad del mamífero tratado. La duración de la infertilidad es proporcional a la dosis, de manera que con dosis suficientes se puede extender el periodo de infertilidad para usar básicamente los compuestos de esta invención para realizar la esterilización; por lo tanto, los compuestos de la invención pueden reemplazar la vasectomía quirúrgica como un medio de esterilización masculina. Cuando se realiza tal esterilización, los compuestos de la invención se administran en una sola dosis o una pluralidad (dos o más) de dosis en las que las dosis son suficientes para reducir la capacidad de producir espermatozoides del mamífero (índice espermatogénico) hasta un nivel de infertilidad. Es decir, los compuestos de la invención se administran en una cantidad y durante un periodo de tiempo suficientes para reducir el recuento espermático hasta un nivel que no es suficiente para la reproducción.

20 Para los usos que se han mencionado anteriormente, la dosis del compuesto de la invención variará dependiendo naturalmente del compuesto específico empleado, el modo de administración y la duración deseada de la infertilidad. Sin embargo, se obtienen resultados satisfactorios en animales con dosis orales de aproximadamente 0,02 a aproximadamente 10 mg/kg, preferentemente aproximadamente 0,1 a 3 mg/kg de peso corporal por día. Para animales más grandes, puede administrarse una cantidad de dosis diaria de aproximadamente 10-100 mg como una sola dosis unitaria oral o en unidades de dosificación dividida que contienen aproximadamente 0,1-10 mg del compuesto de la presente invención. Cuando se administra un solo enantiómero activo, puede administrarse generalmente una dosis más pequeña que cuando se administra un compuesto racémico. Si se desea o es necesario, los compuestos de la invención pueden administrarse junto con vehículos o diluyentes sólidos o líquidos o en forma de liberación prolongada. La formulación de estas formas farmacéuticas es bien conocida en la técnica y se puede usar cualquier procedimiento convencional para preparar formulaciones sólidas, líquidas y de liberación prolongada con los compuestos de la presente invención. Los compuestos de la invención también pueden administrarse por medio de implantes o parches dérmicos convencionales que son bien conocidos en la técnica.

30 Los compuestos de la invención pueden usarse en la anticoncepción en seres humanos masculinos, ya sea mediante espermatogénesis de bloqueo reversible o en esterilización no quirúrgica. En el último uso, la administración de dosis lo suficientemente grandes realiza los efectos de la vasectomía sin el uso de la cirugía y con la eliminación de los efectos secundarios potenciales de la vasectomía.

40 Los compuestos de la invención son útiles también en el control de la reproducción en animales domésticos, salvajes, silvestres o de zoológico. Por ejemplo, los compuestos pueden estar en el control de la reproducción en animales de zoológico. Las poblaciones de animales salvajes y silvestres cerca del hábitat humano, por ejemplo ciervos, o poblaciones animales que producen un gran impacto en la ecología natural, por ejemplo, caballos salvajes y cerdos silvestres, pueden ser controlados selectivamente mediante trampas con cebo sin usar medios letales, tales como disparos con armas de fuego o envenenamiento. El comportamiento animal no se ve afectado con este procedimiento, únicamente la fertilidad.

45 Cuando R^4 es un marcador radiactivo, los compuestos de la invención son útiles para estudiar la función testicular y el diagnóstico de los trastornos testiculares. La administración de los compuestos en las dosificaciones que se han indicado anteriormente se adhiere al tejido testicular.

50 En sus propiedades anti-espermatogénicas, el alto grado de quimio-, estereo- y enantioselectividad de los compuestos junto con su carencia de efectos generales, tales como en la libido, indica que están interactuando con una macromolécula específica en el testículo. El tratamiento de testículo o fracciones de testículo con un derivado radiactivo de los compuestos seguido de la detección de radiactividad mediante técnicas bien conocidas en la técnica de la radioquímica permiten ubicar e identificar la porción del testículo y la macromolécula involucrada en el efecto anti-espermatogénico. Esto se puede usar para detectar e identificar un constituyente importante del testículo, cuya alteración puede conducir a un efecto de anti-fertilidad. La comparación de la capacidad de otros compuestos (tales como análogos de los compuestos actuales o los de bibliografías combinatorias) para inhibir la unión del compuesto radiomarcado puede conducir a compuestos anti-espermatogénicos aún más selectivos y potentes. Además, administrando una pequeña dosis (muy pequeña para tener un efecto clínico sobre la fertilidad) del compuesto radiomarcado a un animal o sujeto humano y después medir la cantidad de radiactividad en el testículo o

áreas específicas del testículo, se puede mostrar si un problema existente de infertilidad está relacionado con la carencia de esta macromolécula. La radiactividad puede medirse en un animal o ser humano vivo mediante técnicas tales como PET y SPECT, que son bien conocidas en la técnica de imagen de tejidos biológicos.

5 Los compuestos también son útiles como patrones internos para fines analíticos. Por lo tanto, por ejemplo, un compuesto tal como 20 puede añadirse en una cantidad conocida a una muestra de sangre, plasma o tejido de un animal o ser humano dosificado con el compuesto 17. Después, la muestra de sangre, plasma o tejido puede extraerse con un disolvente orgánico y el extracto puede someterse a cromatografía analítica líquida de alto rendimiento o a cromatografía de gases, ya sea con o sin conversión en un derivado, tal como el éster metílico. La medición de las áreas de los picos cromatográficos asociados con 17 y 20 y la comparación con las relaciones de área de cantidades conocidas de 17 y 20 sujetas a las mismas condiciones permiten determinar la concentración de 17 en la muestra de sangre, plasma o tejido. Debido al parecido estructural cercano entre 17 y 20, las propiedades fisicoquímicas de los dos compuestos serán similares para extracción, haciendo de este modo uno con un patrón casi ideal para el otro.

15 Para su uso como un espermicida, los compuestos de la presente invención pueden prepararse en una diversidad de formas para su administración. Las formas de composición espermicida convencionales se preparan fácilmente usando procedimientos conocidos. Dichas composiciones espermicidas pueden tener la forma de geles, espumas, gelatinas, cremas, ungüentos, bálsamos, etc. Se usan vehículos convencionales para preparar las composiciones. Las presentes composiciones espermicidas pueden administrarse solas o junto con uno o más procedimientos de barrera para anticoncepción, tales como un diafragma, esponja o condón. La composición puede aplicarse directamente al diafragma, esponja o condón inmediatamente antes de su uso, o puede estar pre-rellenada junto con la esponja o el condón (o incluso un diafragma, aunque la mayoría de los diafragmas son para usos múltiples y se limpian entre usos).

25 Para su uso como un fungicida cuyo uso no atañe a la presente invención, la composición puede prepararse en cualquier forma adecuada para su administración en el área que necesite del mismo. Las formas de administración incluyen, pero sin limitación, las que se han enumerado anteriormente para las composiciones espermicidas, así como también mezclas líquidas. También es posible, por las propiedades fungicidas y espermicidas, que se usen en combinación usando una de las formas comunes de administración.

30

Ejemplos

Ejemplo 1

35 Síntesis de clorhidrato de (4aRS,5SR,96RS) 2-etil-7-metil-2,3,4,4a,5,9b-hexahidro-5-(p-carboxifenil-1H-indeno[1,2-c]piridina.

40 Se añadió yodoetano (540 g, 3,41 mol) en metanol (500 ml) a isonicotinato de etilo (500 g, 3,31 mol). La mezcla se calentó a reflujo suavemente durante una noche. A la solución anterior se le añadió en porciones borohidruro sódico (140 g) en refrigeración (baño de hielo). Después de que se completara la adición de NaBH₄, la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante una noche. La mayor parte del etanol se evaporó, a la solución se añadieron agua y éter y la fase de éter se separó. La evaporación de la fase de éter seco (Na₂SO₄) dio un aceite. La destilación de este aceite de color rojo dio un aceite de color amarillento (470 g, 78%): p.e. 160°C a 0,5 mm.

45 Se añadió gota a gota el compuesto anterior (146 g, 0,8 mol) en éter seco (200 ml) a bromuro de p-tolil-magnesio 1 M en éter (600 ml, 1,6 mol a -10°C). Después de haberse agitado durante 3 horas, la mezcla de reacción se vertió en una solución acuosa al 10% de NH₄Cl (200 ml). La fase acuosa se extrajo con éter. La evaporación de la fase de éter seco (Na₂SO₄) dio un aceite de color amarillento pardo. Este aceite se disolvió en HCl acuoso al 18% (500 ml) y se extrajo con éter. La solución acuosa de HCl se calentó a reflujo durante 2 horas. La evaporación del disolvente dio el aminoácido correspondiente (181 g, rendimiento del 80%), el cual (32 g) se mezcló con ácido polifosfórico (500 ml) y se agitó vigorosamente a 140°C durante 3 horas. La mezcla de reacción se enfrió y se añadió, con precaución, una solución acuosa al 50% de KOH. La solución basificada se extrajo con éter. La evaporación de la fase de éter seco (Na₂SO₄) dio 2-etil-7-metil-2,3,4,4a.alfa.,5,9b.alfa.-hexahidro-1H-indeno[1,2-c]piridina-5-ona en forma de un aceite (22,6 g, 87%). Se obtuvo una muestra analítica pasando a través de una pequeña columna de SiO₂ usando un gradiente de MeOH en CHCl₃ (0-5%): ¹H RMN (90 MHz, CDCl₃) δ 7,5 (1H, s, H-6), 7,3 (2H, m, H-8, H-9), 3,5 (1H, m), 2,3 (3H, s, 7-Me), 2,2 (3H, m), 1,9-1,7 (3H, m), 1,1 (3H, t, Me); EMAR (M+): Calc. para C₁₅H₁₉NO: m/z 229,1467. Observado: m/z: 229,1466.

55

5 A una solución agitada mecánicamente de ácido para-bromobenzoico (1,6 g, 8,0 mmol) en tetrahidrofurano (THF) (15 ml) a -78°C se le añadió gota a gota n-butil litio (16,2 mmol, 6 ml de una solución 2,5 M en hexano) durante un periodo de 45 minutos. Después de agitar la mezcla durante 1,5 horas más, se añadió gota a gota la cetona tricíclica (1,1 g, 5,1 mmol) como una solución en THF (5 ml) durante un periodo de 30 minutos y la agitación continuó durante 2,5 horas a -78°C. La mezcla se vertió en HCl 1 M enfriado con hielo (75 ml) y se extrajo con éter (2 veces, 30 ml). La fase acuosa ácida se agitó durante 15 horas a temperatura ambiente y se concentró a presión reducida para dar un sólido. Este sólido se purificó a través de cromatografía ultrarrápida en columna sobre sílice con una elución de gradiente de MeOH al 10-20% en CHCl₃ y dio clorhidrato de 2-etil-7-metil-2,3,4,9b-tetrahidro-5-(p-carboxifenil)-1H-indeno[1,2-c]piridina en forma de un sólido de color amarillo (1,1 g, 58%). ¹H RMN (250 MHz, CDCl₃) δ 1,54 (3H, t, J = 7,2 Hz), 2,35 (3H, s a), 2,25-2,42 (1H, m), 2,50-2,72 (1H m), 2,94-3,0 (1H, m), 3,15-3,30 (2H, m), 3,50-3,80 (2H, m), 4,17-4,30 (1H, m), 4,40-4,52 (1H, m), 7,0-7,12 (2H, m), 7,32 (1H, d, J = 7,5 Hz), 7,45 (2H, d, J = 8,4 Hz), 8,20 (2H, d, J = 8,4 Hz). EMAR (M+) PM calc. para C₂₂H₂₃NO₂: m/z 333,1729. Observado: m/z 333,1725.

10 A una solución del compuesto anterior (379 mg, 1,03 mmol) en etanol/agua (40 ml de una mezcla 1:1) se le añadieron NaCl (81 mg), PdCl₂ (98 mg), NaBH₄ (100 mg) y HCl concentrado (10 gotas). Después de agitar la mezcla en un aparato Parr en una atmósfera de hidrógeno (310,26 kPa (45 psi)) a 50°C durante 15 horas, se filtró a través de Celite y se concentró a presión reducida. El sólido resultante se suspendió en etanol absoluto, se filtró a través de Celite y el filtrado se concentró a presión reducida para dar clorhidrato de (4aRS,5RS,9bRS) 2-etil-7-metil-2,3,4,4a,5,9b-hexahidro-5-(p-carboxifenil-1H-indeno[1,2-c]piridina. ¹H RMN (250 MHz, CDCl₃) δ 1,4 (3H, t, 7,2 Hz), 1,50-1,60 (1H, m), 1,85-2,00 (1H, m), 2,20 (3H, s), 2,20-2,40 (1H, m), 2,70-2,90 (3H, m) 2,90-3,15 (2H, m), 3,50-3,65 (1H, m), 3,90-4,10 (1H, m), 4,50 (1H, d, J = 7,3 Hz), 6,95, (1H, s a), 7,10 (1H, d, J = 7,5 Hz), 7,20 (1H, d, J = 7,5 Hz), 7,30, (2H, d, J = 8,0 Hz), 8,00 (2H, d, J = 8,0 Hz). EMAR (M+) Calc.: PM para C₂₂H₂₅NO₂: m/z 335,18853. Observado: m/z 335,1887.

25 A una solución de hidróxido potásico (15 g) en n-butanol (60 ml) se le añadió en una porción el compuesto anterior (2,99 g, 8,0 mmol). Después del calentamiento a reflujo durante 20 horas, la mezcla de color pardo oscuro se enfrió a 0°C y se acidificó a un pH = 1 con HCl al 18%. El disolvente se retiró al vacío para dar un sólido de color amarillo. Este sólido se recogió en CHCl₃, se filtró a través de Celite y el filtrado se concentró al vacío para dar clorhidrato de (4aRS,5SR,9bRS) 2-etil-7-metil-2,3,4,4a,5,9b-hexahidro-5-(p-carboxifenil-1H-indeno[1,2-c]piridina en bruto en forma de un sólido de color blanquecino. Este sólido se purificó por cromatografía ultrarrápida en columna usando MeOH al 10%-CHCl₃ y produjo 1,23 g (41%) del compuesto del título en forma de un sólido de color blanco. P.f. = 280°C. (dec.) ¹H RMN (250 MHz, CDCl₃-CD₃OD). δ 1,45 (3H, t, J = 7,3 Hz), 1,8 (1H, d a, J = 14,7 Hz), 2,2 (3H, s), 2,4-2,7 (2H, m), 3,0-3,4 (4H, m), 3,4-3,7 (2H, m), 3,7-4,0 (1H, m), 4,2 (1H, d, 11 Hz), 6,6 (1H, s a), 7,0-7,2 (4H, m), 8,0 (1H, d, J = 7,7 Hz). EMAR (M+) EM calc. para C₂₂H₂₅NO₂: m/z 335,18853. Observado: m/z 335,18830.

35 Anál. Calc. para C₂₂H₂₆ClNO₂·1/2H₂O: C, 69,37; H, 7,14; N, 3,68. Observado: C, 69,72; H, 7,15; N, 3,55.

Ejemplo 2

40 Clorhidrato de (4aRS,5SR,9bRS) 2-etil-7-metil-2,3,4,4a,5,9b-hexahidro-5-(p-carbometoxifenil-1H-indeno[1,2-c]piridina.

45 A una solución del ácido carboxílico del Ejemplo 1 (3,6 g, 9,69 mmol) en metanol (50 ml) a -10°C se le añadió cloruro de tionilo (1,1 ml, 14,5 mmol) durante un periodo de 10 minutos. La solución resultante se dejó en reposo en un refrigerador a 5°C durante 68 horas, tiempo durante el cual producto comenzó a cristalizar en forma de agujas finas de color blanco. Se obtuvieron tres cosechas y se combinaron para dar 2,65 g del compuesto del título. P.f. = 204°C. (sublimado). ¹H RMN (250 MHz, CDCl₃): δ 1,1 (3H, t, J = 7,2 Hz), 1,6 (1H, d a, J = 14,2 Hz), 1,80-2,00 (2H, m), 2,1-2,2 (1H, m), 2,2 (3H, s), 2,4 (2H, c, J = 7,2 Hz), 2,5-2,6 (1H, m), 2,7-2,8 (1H, m), 2,9 (1H, dd, J = 5,94, 11,64 Hz), 3,3-3,4 (1H, m), 3,9 (3H, s), 4,2 (1H, d, J = 10,0 Hz), 6,7 (1H, s a), 7,0 (1H, d, J = 7,5 Hz), 7,2 (1H, d, J = 7,5 Hz), 7,3 (2H, d, J = 8,0 Hz), 8,0 (2H, d, 8,0 Hz).

50 Anál. Calc. para C₂₃H₂₈ClNO₂·1/4H₂O: C, 70,75; H, 7,36; N, 3,59. Observado: C, 70,67; H, 7,36; N, 3,59.

Ejemplo 3

Clorhidrato de (4aRS,5SR,9bRS)-2-etil-2,3,4,4a,5,9b-hexahidro-8-yodo-7-metil-5-(4-carbometoxifenil-1H-indeno[1,2-c]piridina (18) y su enantiómero (1) ((1)-18).

A una solución en agitación de (4aRS,5SR,9bRS)-2-etil-2,3,4,4a,5,9b-hexahidro-7-metil-5-(4-carbometoxifenil-1H-indeno[1,2-c]piridina (341 mg, 0,88 mmol) en ácido acético glacial (2 ml) se le añadió HClO₄ (1 ml) al 62% seguido de H₂O (205 mg, 0,95 mmol). La mezcla se sonicó brevemente con el fin de efectuar una solución homogénea. Se añadió gota a gota durante 15 minutos una solución de yodo (235 mg, 0,925 mmol) en ácido acético glacial (17 ml) y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante una noche. La mezcla de color naranja-rojo se vertió en agua (100 ml), se enfrió a 5°C, se basificó a pH 12 con NaOH al 30% y se extrajo con éter (3 x 75 ml). Los extractos de éter transparentes incoloros se combinaron, se lavaron sucesivamente con agua (20 ml) y salmuera (30 ml), se secaron (MgSO₄), se filtraron y se concentraron al vacío para dar la base libre en bruto de 18 (448 mg). Este material se transformó en la sal HCl usando cloruro ácido metanólico al 3% y se recristalizó en EtOAc-MeOH. Rendimiento = 400 mg (89%). P.f. = >190°C. (dec). ¹H RMN (250 MHz, CDCl₃, en forma de base libre); δ 1,15 (3H, t, J = 7,2 Hz), 1,65 (1H, d a), 1,8-2,1 (3H, m), 2,32 (3H, s), 2,48 (3H, c, J = 7,2 Hz, +m), 2,80 (1H, d a), 2,97 (1H, dd, J = 11,8, 5,8 Hz), 3,41 (1H, m), 3,91 (3H, s), 4,19 (1H, d, J = 9,8 Hz), 6,78 (1H, s), 7,22 (2H, d, J = 8,3 Hz), 7,73 (1H, s), 8,00 (2H, d, J = 8,3 Hz). EMAR: Calc. para C₂₃H₂₆NO₂I, (correspondiente a la base libre): m/z 475,1008. Observado: m/z 475,1004. Anál. calculado para C₂₃H₂₇ClNO₂·1/2H₂O: C, 53,04; H, 5,42; N, 2,69. Observado: C, 52,70; H, 5,60; N, 2,57. El enantiómero activo, (1)-18, se sintetizó de un modo similar partiendo de (1)-3. [α]_D = -5,6 (c = 1,18, CHCl₃).

Ejemplo 4

Síntesis de clorhidrato de (4aRS,5SR,9bRS)-2-etil-2,3,4,4a,5,9b-hexahidro-8-yodo-7-metil-5-(4-carboxifenil)-1H-indeno[1,2-c]piridina (17).

Al clorhidrato de (4aRS,5SR,9bRS)-2-etil-2,3,4,4a,5,9b-hexahidro-7-metil-5-(4-carboxifenil)-1H-indeno[1,2-c]piridina (250 mg, 0,673 mmol) en 2 ml de ácido acético se le añadieron 6 ml de una mezcla 1:1 de ácido acético y ácido perclórico. Se añadió H₂O (1,35 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente hasta que se disolvió el H₂O. A la mezcla de reacción se le añadieron gota a gota una solución de 12 (427 mg, 1,68 mmol) en 4 ml de ácido acético y 6 ml de CH₂Cl₂ mediante un embudo de adición. La mezcla de reacción se agitó durante una noche a temperatura ambiente y después se filtró a través de celite. El sólido de color rojo se lavó con agua y CH₂Cl₂. El filtrado bifásico combinado se separó mediante un embudo de decantación. La fase orgánica se lavó con una solución saturada de bisulfito sódico, se secó sobre sulfato de sodio (anhidro), se filtró y se concentró para dar 234 mg de un sólido de color amarillo pardo, convertido en el clorhidrato de la manera habitual. ¹H RMN (250 MHz, CDCl₃/CD₃OH) δ 1,28 (3H, t, J = 7,2 Hz), 2,0-2,1 (1H, m), 2,3 (3H, s), 2,56 (2H, m), 3,04 (3H, m), 3,24 (1H, m), 3,46 (2H, m), 4,18 (1H, d, J = 11Hz), 6,73 (1H, s), 7,13 (2H, d, J = 8,2 Hz), 7,71 (1H, s), 7,89 (2H, d, J = 8,2 Hz). EMAR calculado para C₂₂H₂₄NO₂I (correspondiente a la base libre): m/z 461,0852. Observado: m/z 461,0857.

Ejemplo 5

Síntesis de clorhidrato de (4aRS,5SR,9bRS)-2-etil-8-bromo-7-metil-2,3,4,4a,5,9b-hexahidro-5-(4-carboxifenil)-1H-indeno[1,2-c]piridina (19).

Se disolvió clorhidrato de (4aRS,5SR,9bRS)-2-etil-8-yodo-7-metil-2,3,4,4a,5,9b-hexahidro-5-(4-carboxifenil)-1H-indeno[1,2-c]piridina (200 mg, 0,402 mmol) en 20 ml de THF y 0,4 ml de hexametilfosoramida. A esta solución se le añadieron 50 mg de hidruro sódico (60% en aceite mineral). La mezcla se calentó a reflujo durante 1 hora y después se enfrió a -78°C. Se añadió lentamente una solución de terc-butil litio (0,73 ml, 1,1 M en pentano, 0,804 mmol). Después de la adición, la mezcla se agitó a -78°C durante 20 minutos. Se añadió 1,2-dibromoetileno (1 ml). La mezcla se agitó a -78°C durante 30 minutos más y después se calentó a temperatura ambiente. A la solución se le añadió ácido clorhídrico al 5% hasta que la solución se volvió ácida. La mezcla se extrajo con cloruro de metileno. La solución de cloruro de metileno se lavó con salmuera y se secó sobre MgSO₄. El producto en bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida en columna (sílice; cloruro de metileno y metanol, 10:1) para proporcionar el compuesto del título: 30 mg, rendimiento del 17%, p.f. 169,6-170,3°C. ¹H RMN (250 MHz, D₂O-CDCl₃), δ 1,25 (3H, t, J = 7,0 Hz), 1,72 (1H, d, J = 15 Hz), 1,90-2,15 (1H, m), 2,19 (3H, s), 2,36 (1H, t, J = 12,5 Hz), 2,5-2,65 (1H, m), 2,7-3,0 (3H, m), 3,2-3,4 (4H, m), 3,4-3,6 (1H, m), 4,13 (1H, d, J = 10,5 Hz), 6,71 (1H, s), 7,11 (2H, d, J = 8,0 Hz), 7,43 (1H, s), 7,89 (2H, d, J = 8,0 Hz). EM: 413 (M). Anál. (C₂₂H₂₅O₂BrClN·1,8H₂O): Calculado C 54,68, H 5,22, N 2,90; Observado C

54,77, H 5,52, N 2,57, EMAR Calc. para $C_{22}H_{24}NO_2Br$ (correspondiente a la base libre): m/z 413,0990. Observado: m/z 413,0994.

Ejemplo 6

Síntesis de clorhidrato de (4aRS,5SR,9bRS)-2-etil-8-cloro-7-metil-2,3,4,4a,5,9b-hexahidro-5-(4-carboxifenil)-1H-indeno[1,2-c]piridina (20).

Se disolvió clorhidrato de (4aRS,5SR,9bRS)-2-etil-8-yodo-7-metil-2,3,4,4a,5,9b-hexahidro-5-(4-carboxifenil)-1H-indeno[1,2-c]piridina (250 mg, 0,5 mmol) en 25 ml de THF y 0,5 ml de HMPA. A esta solución se le añadieron 60 mg de hidruro de sodio (60% en aceite mineral). La mezcla se calentó a reflujo durante 1 hora y después se enfrió a -78°C. Se añadió lentamente una solución de terc-butil litio (0,91 ml, 1,1 M en pentano, 1,04 mmol). Después de la adición, la mezcla se agitó a -78°C durante 20 minutos. Se añadió una solución de hexacloroetano (2,46 g, 10,4 mmol) en 2 ml de THF. La mezcla se agitó a -78°C durante 30 minutos más y después se calentó a temperatura ambiente. A la solución se le añadió ácido clorhídrico al 5% hasta que la solución se volvió ácida. La mezcla se extrajo con cloruro de metileno. La solución de cloruro de metileno se lavó con salmuera y se secó sobre $MgSO_4$. El producto en bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida en columna (cloruro de metileno y metanol, 10:1) para proporcionar el compuesto del título: 60 mg, rendimiento del 30%. 1H RMN (250 MHz, D_2O - $CDCl_3$) δ 1,35 (3H, t, J = 7,25 Hz), 1,75-1,95 (1H, m), 2,30 (3H, s), 2,45-2,75 (2H, m), 2,80-3,15 (2H, m), 3,20-3,50 (4H, m), 3,50-3,70 (1H, m), 4,25 (1H, d, J = 10 Hz), 6,80 (1H, s), 7,25 (2H, d, J = 7,5 Hz), 7,32 (1H, s), 8,0 (2H, d, J = 7,5 Hz). EM: 370 (M). Anál. ($C_{22}H_{25}O_2Cl_2N$): Calculado C 65,50, H 6,20, N 3,45; Observado C 65,65, H 6,73, N 3,59, EMAR Calc. para $C_{22}H_{24}NO_2Cl$ (correspondiente a la base libre): m/z 369,1495. Observado: m/z 369,1494.

Ejemplo 7

Síntesis de (4aRS,9bRS)-2-etil-2,3,4,4a,9b-hexahidro-1H-indeno[1,2-c]piridin-5-ona (7).

Se disolvió 1-etil-3-(4-metilfenil)-4-piridincarboxilato de metilo en bruto (preparado como se describe en la Patente de Estados Unidos N° 5.319.084 para el éster etílico análogo) a partir de 165 g de 1-etil-1,2,5,6-tetrahidropiridincarboxilato de metilo en 1 l de HCl acuoso al 18% y se extrajo con éter (300 ml) para retirar el bitolilo restante como un subproducto a partir de su síntesis. Después, la solución acuosa se calentó a reflujo durante 48 horas y después se concentró a presión reducida con acetonitrilo añadido (destilación azeotrópica) para dar clorhidrato del ácido 1-etil-1,2,5,6-tetrahidropiridincarboxílico (283 g), que se secó completamente a 100°C en alto vacío. Como este material es muy higroscópico, se almacenó en nitrógeno. Se añadió, con precaución, cloruro de tionilo (150 ml) a 7 puro (45 g, 159 mmol) a 5°C. Después de la adición, se retiró el baño de hielo; y la solución homogénea resultante se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. Se retiró el exceso de $SOCl_2$ al vacío para dar una masa pastosa, espesa y de color oscuro. A este material se le añadió 1,2-dicloroetano (25 ml) y se retiraron 30 ml de disolvente al vacío para retirar $SOCl_2$ residual. A la mezcla turbia se le añadió en porciones $AlCl_3$ (53 g, 397 mmol) durante un periodo de 45 minutos. La temperatura se controló por medio de un baño de agua a aprox. 25°C. Después de la adición, la solución de color rojo-pardo oscura, se agitó a 35-40°C durante una hora y después se vació en un vaso de precipitados que contenía aprox. 400 g de hielo picado y 50 ml de HCl conc. La fase acuosa se basificó a un pH de aprox. 12 con NaOH al 30% (aprox. 350 ml) con refrigeración en un baño de hielo-agua. La mezcla resultante se extrajo con enfriamiento en un baño de hielo-agua. La mezcla resultante se extrajo con éter (3 x 400 ml), las fases de éter combinadas se lavaron sucesivamente con agua y salmuera, se secaron ($MgSO_4$), se filtraron y se concentraron a presión reducida para dar un aceite de color naranja-rojo. Este aceite se destiló usando un aparato Kugelrohr (125-135°C a 0,5 mm de Hg) para dar 21,6 g (59%) de cetona 7 en forma de un sólido de color amarillo brillante, con propiedades de RMN idénticas con material idéntico.

Ejemplo 8

Síntesis de enantiómeros de (4aRS,5SR,9bRS)-2-etil-7-metil-5-(4-carbometoxifenil)-2,3,4,4a,5,9b-hexahidroindeno 1,2-c]piridina y (4aRS,5SR,9bRS)-2-etil-7-metil-5-(4-carboxifenil)-2,3,4,4a,5,9b-hexahidro-indeno[1,2-c]piridina.

Se describen enantiómeros como (d) o (1) en base a la rotación óptica de la línea D de sodio en el disolvente dado. Los compuestos que tienen el mismo signo de rotación no necesariamente tienen la misma configuración absoluta.

Clorhidrato de 1-etil-4-carboxi-1,2,5,6-tetrahidropiridina. Se calentó a reflujo 1-etil-1,2,5,6-tetrahidropiridincarboxilato de metilo (11) en 250 ml de HCl 1,5 M durante 4 horas. La mezcla se concentró a sequedad usando calor aplicado y una corriente de nitrógeno para dar un sólido altamente cristalino. El sólido se recrystalizó en MeOH y dio 19,6 g de

sal HCl de 12; p.f. = 265°C (dec). Anál. calc. para $C_8H_{14}ClNO_2$: C, 50,14; H, 7,36; N, 7,31. Observado: C, 50,23; H, 7,36; N, 7,28.

5 (1)-Enoil Sultama ((1)-13) obtenido a partir de 1S(-)-(2,10)alcanforsultama). Al clorhidrato de 12 (1,3 g, 6,79 mmol) se le añadió cloruro de tionilo (15 ml) y la mezcla resultante se calentó a reflujo durante 2 horas. Se retiró el $SOCl_2$ en exceso al vacío y el residuo se trituró con 10 ml de tolueno seco y se concentró al vacío. El proceso de trituración se repitió dos veces más para dar un sólido en polvo de color amarillo. En un recipiente separado se añadió gota a gota n-butil litio (15 mmol, 6,0 ml de una solución 2,5 M en hexano) a una solución de 1S(-)-2,10-alcanforsultama (3,16 g, 14,7 mmol) en THF (30 ml) a 5°C. Después de la adición, la solución transparente incolora se llevó a temperatura ambiente y se agitó durante 45 minutos más. Después, la solución del anión de sultama se canuló en el matraz que contenía el clorhidrato de cloruro del ácido amino a 5°C. Después de la adición, la mezcla de color naranja se dejó en reposo a temperatura ambiente y se agitó durante 18 horas. La reacción se interrumpió mediante la adición de NH_4Cl saturado (aprox. 1 ml) y se concentró al vacío para dar un residuo de brea color pardo. El residuo se repartió entre éter y agua y la fase de éter se lavó una vez más con agua. Después, la fase de éter se lavó con HCl acuoso diluido (aprox. 5%) y se separó. Se obtuvo la sultama libre (fase de éter) (1,2 g) por recristalización en EtOH absoluto. El producto [(1)-13] se obtuvo basificando la fase acuosa ácida con NH_4OH concentrado a pH 12, extracción con éter y la recristalización en n-hexano del residuo a partir de la evaporación de la fase de éter. Esto dio 1,9 g de (1)-13 en forma de agujas espesas de color blanco; p.f. = 120°C, $[\alpha]_D^{21} = -74,8^\circ$ (c = 1,0, $CHCl_3$), 1H RMN idéntico con su antípoda (véase a continua). Anál. calc. para $C_8H_{28}N_2O_3S$: C, 61,33; H, 8,01; N, 7,95. Observado: C, 61,35; H, 8,06; N, 7,89.

25 Enantiómero (d)-Enoil Sultama de 13 obtenido a partir de 1R(+)-(2,10)-alcanforsultama. Este se preparó a partir del clorhidrato del aminoácido 12 (6,5 g, 34,1 mmol) y 1R(+)-2,10-alcanforsultama (15,4 g, 71,4 mmol) en un procedimiento similar al descrito para la antípoda (véase anteriormente) en rendimiento del 83%. P.f. = 118,5°C-119,60°C. (recristalizado en hexano en forma de laminillas espesas de color paja); $[\alpha]_D^{21} = +74,1^\circ$ (c = 1,0, $CHCl_3$); 1H RMN (250 MHz, $CDCl_3$): δ 1,00 (3H, s), 1,12 (3H, t, J = 7,1 Hz), 1,22 (3H, s), 1,3-1,5 (2H, m), 1,8-2,1 (5H, m), 2,2-2,4 (1H, m), 2,55 (2H, c, J = 7,1 Hz), 2,6-2,7 (3H, m), 3,1-3,3 (2H, m), 3,38 (1H, d, J = 13,6 Hz), 3,50 (1H, d, J = 13,6 Hz), 4,0-4,1 (1H, m), 6,5-6,6 (1H, m); Anál. Calc. para $C_{18}H_{28}N_2O_3S$: C, 61,33; H, 8,01; N, 7,95. Observado: C, 61,48; H, 8,02; N, 7,98. La forma cristalina de este material varió dependiendo de lo rápido que se retiró por precipitación de hexano y la concentración durante la etapa de purificación.

35 1,4-Aducto(1)-14 obtenido a partir de (1)-13. A una solución de enoil sultama (1)-13 (5,6 g, 16,0 mmol) en tolueno (200 ml) a -78°C se le añadió bromuro de p-tolilmagnesio (33,6 mmol, 33,6 ml de una solución 1,0 M en éter) durante 10 minutos. Después de agitarse durante 30 minutos más a -78°C, la mezcla de reacción se colocó en un refrigerador (-10°C) durante una noche y después se calentó hasta +5°C durante dos horas más. La mezcla se inactivó añadiéndola a NH_4Cl saturado (200 ml). Después de la extracción de la fase acuosa con éter (400 ml), la fase de éter se extrajo con HCl al 3% (3 x 200 ml). Las fases ácidas se combinaron, se hicieron básicas con NH_4OH (pH = 12), se extrajeron con éter (3 x 200 ml), y las fases de éter se lavaron con salmuera, se secaron ($MgSO_4$), se filtraron y se concentraron a presión reducida para dar un sólido de color naranja (7,12 g). Este sólido se recristalizó en éter-hexano (aprox. 40 ml de una mezcla de aproximadamente 1:2, respectivamente). Rendimiento = 3,64 g. Una segunda cosecha dio 1,24 g más. Total = 4,68 g (66%). P.f. = 150,5-151,7°C. (Éter-hexano; prismas densos, espesos de color paja); $[\alpha]_D^{21} = 26,2^\circ$ (c = 1,14, $CHCl_3$); 1H RMN (500 MHz, $CDCl_3$): δ 0,44 (3H, s), 0,32 (3H, s), 1,13 (3H, t, J = 7,16 Hz), 1,20-1,30 (2H, m), 1,40-1,55 (1H, m), 1,62-1,65 (1H, m), 1,70-1,85 (3H, m), 1,95-2,05 (1H, m), 2,05-2,10 (1H, m), 2,27 (3H, s), 2,55 (2H, c, J = 7,16 Hz), 2,55-2,62 (1H, m), 2,68-2,72 (1H, m), 2,82 (1H, dd, J = 10,64, 3,47 Hz), 3,12 (1H, t, J = 10,8 Hz), 3,24-3,28 (1H, m), 3,30 (1H, d, J = 14,0 Hz), 3,32 (1H, d, J = 14,0 Hz), 3,55-3,60 (1H, m), 3,67-3,71 (1H, m), 7,02 (2H, d, J = 7,96 Hz), 7,15 (2H, d, J = 7,96 Hz); Anál. calc. para $C_{25}H_{36}N_2O_3S$: C, 67,53; H, 8,16; N, 6,30. Observado: C, 67,58; H, 8,15; N, 6,30.

50 Cetona (d)-7 enantioméricamente pura obtenida a partir de (1)-14. A una solución del 1,4-aducto (1)-14 (6,86 g, 15,45 mmol) en THF (40 ml) se le añadió una solución recién preparada de LiOH.multipunto. H_2O (6,43 g, 153 mmol) en agua (40 ml). La mezcla heterogénea resultante se agitó vigorosamente en un reflujo suave durante 26 horas. La mezcla se enfrió hasta aproximadamente +5°C, se acidificó a pH = 0 con HCl conc. y la masa entera de los componentes volátiles se eliminó dirigiendo una corriente moderadamente fuerte de gas nitrógeno sobre la superficie de la mezcla mientras se sumergía en un baño de agua caliente (temp. = 50°C). El sólido restante se secó completamente a alto vacío. El material en bruto obtenido se cicló para dar la cetona (d)-7 de una manera similar al material racémico (véase anteriormente) usando cloruro de tionilo y después $AlCl_3$ en 1,2-dicloroetano. Esto produjo 1,12 g de cetona (d)-7 de base libre en forma de un aceite que solidificó después de un periodo de reposo durante una noche. Una parte de este material se purificó después de haberse recuperado de la siguiente etapa para obtener los datos físicos. $[\alpha]_D^{20} = +95,9^\circ$ (base libre, c = 1,2, $CHCl_3$); $[\alpha]_D^{20} = +71,9^\circ$ (sal HCl, c = 1,1, $CHCl_3$).

Olefina (d)-15 enantioméricamente pura obtenida a partir de la cetona (d)-7. Este material se obtuvo a partir de la cetona (d)-7 (1,12 g, 4,89 mmol) de una manera similar al procedimiento racémico (véase la Patente de Estados Unidos N° 5.319.084). El rendimiento fue de 850 mg (47%). $[\alpha]_D^{19} = +21,2^\circ$ (c = 1,24, CHCl₃).

5

La síntesis de (1)-2-etil-7-metil-2,3,4,4a,5,9b-hexahidro-5-(4-bromofenil)-5-hidroxi-1H-indeno[1,2-c] piridina. A una solución agitada vigorosamente de 4-bromoyodobenceno (13,8 g, 48,9 mmol) en 160 ml de THF se le añadió muy lentamente una solución de n-butil litio (19,6 ml, 2,5 M en pentano, 49 mmol). Después de la adición, la solución se agitó a -78°C durante 10 minutos. La solución se volvió de color amarillo y turbia. Se añadió una solución de (d)-2-etil-7-metil-1,2,3,4,4a,5,9b-hexahidroindeno[1,2-c]piridin-5-ona (8 g, 34,9 mM) en 40 ml de THF. Después, la mezcla se agitó a -78°C durante 2 horas. El baño de refrigeración se retiró y la mezcla se inactivó con agua. La fase orgánica se separó y la fase acuosa se extrajo con cloruro de metileno. Las fases orgánicas se combinaron, se lavaron con salmuera y se secaron sobre MgSO₄. La evaporación del disolvente proporcionó el producto en bruto, que recristalizó en cloruro de metileno para producir el compuesto del título (10,8 g, 80%). P.f. = 169,6-170,3°C. ¹H RMN (250 MHz, CDCl₃), δ 1,00 (3H, t, J = 7,3 Hz), 1,70-2,00 (2H, m), 2,15-2,30 (1H, m), 2,29 (3H, s), 2,39 (2H, c, J = 7,3 Hz), 2,5-2,7 (2H, m), 2,70-2,85 (1H, m), 2,85-3,00 (1H, m), 3,30-3,50 (1H, m), 6,84 (1H, s), 7,17 (2H, c, J = 7,5 Hz), 7,31 (2H, d, J = 11Hz), 7,43 (2H, d, J = 11 Hz). EM: 386 (M), 230 (100%). $[\alpha]_D = -11,5^\circ$ (c = 1,03, CHCl₃). Anál. (C₂₂H₂₄OBrN): Calculado C, 65,28, H 6,26, N 3,62; Observado C 65,11, H 6,21, N 3,64.

10

15

20

25

La síntesis del (l)-enantiómero de (4aRS,5SR,9bRS)-2-etil-7-metil-2,3,4,4a,5,9b-hexahidro-5-(4-bromofenil)-1H-indeno[1,2-c]piridina (1). Una solución de (1)-10-2-etil-7-metil-2,3,4,4a,5,9b-hexahidro-5-(4-bromofenil)-5-hidroxi-1H-indeno[1,2-c]piridina (4,5 g, 13 mmol) y 100 ml de trietilsilano en 300 ml de cloruro de metileno anhidro se enfrió a -78°C. Se burbujeó gas trifluoroborano a la solución durante 10 minutos. La solución incolora se volvió de color naranja. La mezcla se calentó a temperatura ambiente y se añadieron 10 g de carbonato potásico seguido de agua. La fase orgánica se separó y la fase acuosa se extrajo con cloruro de metileno. Las fases orgánicas se combinaron, se lavaron con salmuera y se secaron en MgSO₄. El disolvente se evaporó para dar el producto en bruto.

30

35

40

El producto en bruto se disolvió en 40 ml de n-butanol. Se añadió hidróxido potásico (9 g). La mezcla se calentó a reflujo con agitación. Después de haberse calentado a reflujo durante 20 h, la mezcla se enfrió a temperatura ambiente y se vertió en hielo. La mezcla se extrajo con cloruro de metileno. La solución de cloruro de metileno se lavó con salmuera y se secó sobre MgSO₄. El disolvente se evaporó y el producto en bruto se repartió entre éter dietílico y una solución al 18% de ácido clorhídrico. Las fases se separaron y la solución acuosa se lavó una vez más con éter dietílico. La solución acuosa se enfrió a 0°C y se basificó con una solución al 50% de hidróxido sódico a pH >14. La mezcla se extrajo tres veces con cloruro de metileno. La solución orgánica se lavó con salmuera y se secó sobre MgSO₄. La evaporación del disolvente proporcionó el producto en bruto, que se purificó por cromatografía ultrarrápida en columna (gel de sílice, CH₂Cl₂ y MeOH, 100:3) para dar el compuesto (1)-10 del título, rendimiento del 67% (en dos etapas). La sal clorhidrato se preparó de la manera habitual. P.f. 240°C (se descompone). ¹H RMN (250 MHz, CDCl₃), δ 1,12 (3 H, t, J = 7,25), 1,6-1,8 (1H, m), 1,80-2,05 (2H, m), 2,15-2,40 (2H, m), 2,26 (3H, s), 2,70-2,85 (1H, m), 2,90-3,10 (1H, m), 3,30-3,45 (1H, m), 4,12 (1H, d, J = 10,25 Hz), 6,72 (1H, s), 7,00-7,30 (4H, m), 7,44 (2H, d, J = 9,0 Hz). EM: 370 (M). $[\alpha]_D = -7,8^\circ$ (c = 0,83, MeOH). Anál. (C₂₁H₂₄BrN·HCl): Calculado C 62,00, H 6,19, N 3,44; Observado C 61,96, H 6,23, N 3,35.

45

50

La síntesis de (1)-enantiómero de clorhidrato de (4aRS,5SR,9bRS)-2-etil-2,3,4,4a,5,9b-hexahidro-7-metil-5-(4-carboxi-fenil)-1H-indeno[1,2-c]piridina [(1)-2]. Una solución de 100 mg (0,27 mmol) de compuesto (1)-10 en 5 ml de THF se enfrió a -78°C. A esta solución se le añadieron 0,54 ml de una solución de n-butil litio (2,5 M en pentano, 1,35 mmol). La solución se agitó a -78°C durante 30 minutos. Se hizo burbujear gas dióxido de carbono en la solución durante 10 minutos a través de una aguja. La mezcla se agitó a -78°C durante 10 minutos más y se calentó a temperatura ambiente. El THF se evaporó y el residuo se acidificó con ácido clorhídrico al 18%. La mezcla se extrajo con cloruro de metileno. La solución de cloruro de metileno se lavó con salmuera y se secó sobre MgSO₄. El reactivo de secado se filtró y la solución se concentró para dar el producto en bruto. La purificación por cromatografía en columna (gel de sílice, CH₂Cl₂ y MeOH, 10:1 a 1:1) del producto en bruto proporcionó 72 mg (rendimiento del 71%) (-)-2. $[\alpha]_D = -15,5^\circ$ (c = 1,24, MeOH).

55

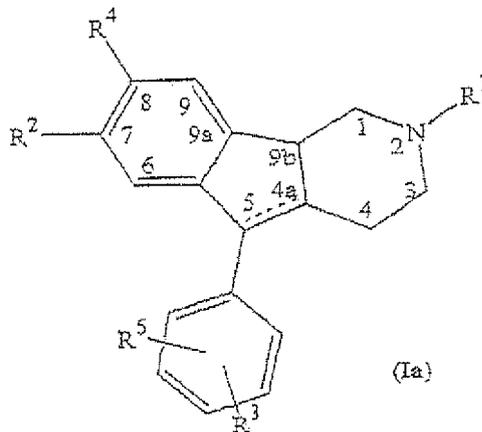
Síntesis del (d)-enantiómero de clorhidrato de (4aRS,5SR,9bRS)-2-etil-2,3,4,4a,5,9b-hexahidro-7-metil-5-(4-carbometoxifenil)-1H-indeno[1,2-c]piridina [(d)-3]. Una solución de (1)-2 (20 mg) en 1 ml de metanol se enfrió a -10°C (hielo-acetona). Se añadió cloruro de tionilo en exceso. Después de la adición, la mezcla se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante una noche. El cloruro de tionilo en exceso y el disolvente se eliminaron con nitrógeno y el residuo se secó al vacío. El producto en bruto se analizó por HPLC (Sumiquiral, QA-4900, 4 mm x 25 cm; disolventes: 1,2-dicloroetano al 53,8%, hexano al 44%, etanol al 2,2% y TFA al 0,1%; caudal: 0,8 ml/minuto; λ = 254

nm), que mostró > 97% de ee de (d)-3.

5 Síntesis del (d)-enantiómero de clorhidrato de (4aRS,5SR,9bRS)-2-etil-2,3,4,4a,5,9b-hexahidro-7-metil-5-(4-carboxifenil)-1H-indeno[1,2-c]piridina [(d)-2] y del enantiómero de clorhidrato de (4aRS,5SR,9bRS)-2-etil-2,3,4,4a,5,9b-hexahidro-7-metil-5-(4-carbometoxifenil)-1H-indeno[1,2-c]piridina [(1)-3]. Estos dos compuestos pueden sintetizarse partiendo con la enoilsultama (d)-13 que se ha descrito anteriormente y realizando las etapas posteriores que se han utilizado anteriormente para la síntesis de sus enantiómeros. Sus propiedades se han descrito previamente. Véase Cook y col., J. Med. Chem., 38:753-763 (1995).

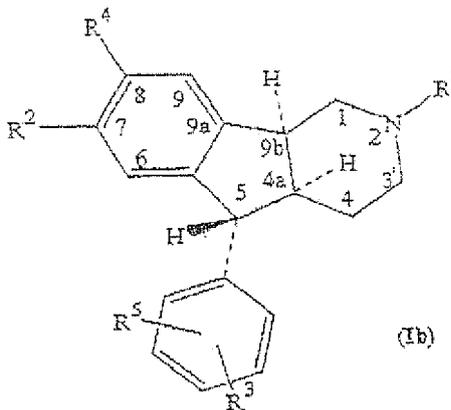
REIVINDICACIONES

1. Un dispositivo anticonceptivo tratado con espermicida que comprende: un compuesto de la fórmula I(a):



5 en la que R¹ es hidrógeno o alquilo C₁₋₆ o cicloalquilo C₃₋₈ de cadena lineal o ramificada; R² es hidrógeno, alquilo C₁₋₆ de cadena lineal o ramificada; cada uno de R³ y R⁵ es, independientemente, hidrógeno, SO₃H, alquilo C₁₋₆ de cadena lineal o ramificada, CH₂OH, CH₂OMe, alcoxi C₁₋₆ de cadena lineal o ramificada, carboxil (COOH), un grupo no éster que puede convertirse en las
 10 condiciones fisiológicas de un mamífero en un grupo carboxilo, éster del ácido carboxílico (COOR, en el que R es alquilo C₁₋₁₀, arilo C₆₋₁₀, aralquilo C₇₋₁₀), hidroximetil éster (CH₂OC(O)-R, en el que R es como se ha definido anteriormente), CONH₂, CONHR, CONR², CH₂OCONHR, CN, CH=NHNHCONH₂ y halógeno; y R⁴ es hidrógeno, halógeno, R₃Si o COR,
 15 y un vehículo; y un dispositivo anticonceptivo de barrera.

2. El dispositivo anticonceptivo tratado con espermicida de la reivindicación 1, en el que el compuesto es un compuesto de la fórmula I(b):



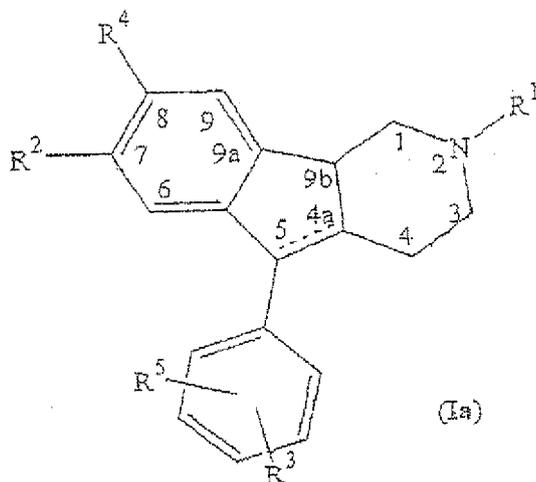
20 3. El dispositivo anticonceptivo tratado con espermicida de la reivindicación 1, en el que R¹ es un miembro seleccionado entre el grupo constituido por hidrógeno, metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo, iso-butilo, n-pentilo, iso-pentilo, n-hexilo, iso-hexilo, ciclopropilo, ciclopentilo y ciclohexilo; R² es un miembro seleccionado entre el grupo constituido por hidrógeno, metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo, iso-butilo, n-pentilo, iso-pentilo, n-hexilo e iso-hexilo;
 25 R³ está en la posición 4 y es un miembro seleccionado entre el grupo constituido por hidrógeno, hidroximetil (CH₂OH), formil (CHO), carboxil (COOH), éster del ácido carboxílico (COOR, en el que R es alquilo C₁₋₁₀, arilo C₆₋₁₀ o aralquilo C₇₋₁₀), hidroximetil éster (CH₂OC(O)-R, en el que R es como se ha definido anteriormente), CONH₂,

CONHR, CONR₂, CH₂OCONHR, CN, CH=NHNHCONH₂ y halógeno;
 R⁵ es hidrógeno; y
 R⁴ es un miembro seleccionado entre el grupo constituido por hidrógeno y halógeno.

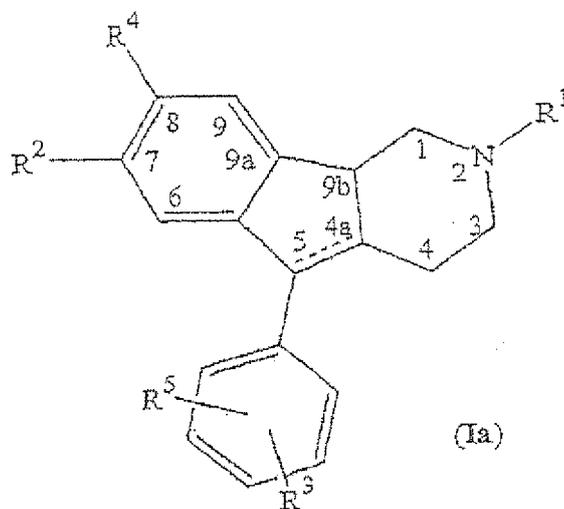
5 4. El dispositivo anticonceptivo tratado con espermicida de la reivindicación 3, en el que R¹ es metilo, etilo, n-propilo o iso-propilo;
 R² es metilo, etilo, n-propilo o iso-propilo;
 R³ es 4-COOH o 4-COOR, en el que R es como se ha definido anteriormente;
 R⁵ es hidrógeno; y
 R⁴ es halógeno.

15 5. El dispositivo anticonceptivo tratado con espermicida de la reivindicación 1, siendo dicha barrera anticonceptiva en este documento un miembro seleccionado entre el grupo constituido por diafragmas, esponjas anticonceptivas y condones.

6. Un procedimiento anticonceptivo que comprende:
 administrar por vía oral a un sujeto una composición que comprende un primer compuesto de fórmula I(a):



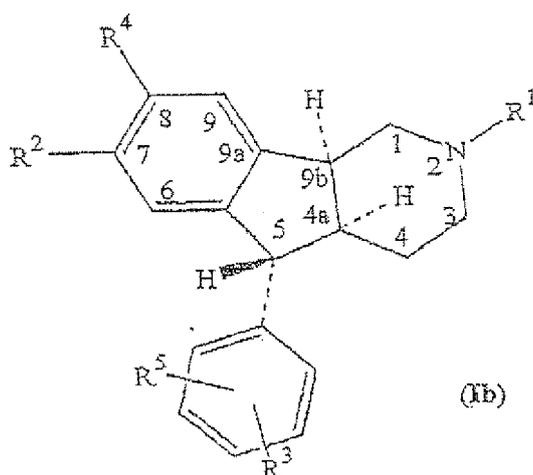
20 en la que R¹ es hidrógeno o alquilo C₁₋₆ o cicloalquilo C₃₋₈ de cadena lineal o ramificada;
 R² es hidrógeno, alquilo C₁₋₆ de cadena lineal o ramificada;
 cada uno de R³ y R⁵ es, independientemente, hidrógeno, SO₃H, alquilo C₁₋₈ de cadena lineal o ramificada, CH₂OH, CH₂OMe, alcoxi C₁₋₆ de cadena lineal o ramificada, carboxil (COOH), un grupo no éster que puede convertirse en las condiciones fisiológicas de un mamífero en un grupo carboxilo, éster del ácido carboxílico (COOR, en el que R es alquilo C₁₋₁₀, arilo C₆₋₁₀, aralquilo C₇₋₁₀), hidroximetil éster (CH₂OC(O)-R, en el que R es como se ha definido anteriormente), CONH₂, CONHR, CONR₂, CH₂OCONHR, CN, CH=NHNHCONH₂ y halógeno; y
 25 R⁴ es hidrógeno, halógeno, R₃Si o COR,
 en un vehículo farmacéuticamente aceptable; y
 el uso concurrente por dicho sujeto de un dispositivo anticonceptivo tratado con espermicida que comprende:
 un segundo compuesto de fórmula I(a):



en la que R¹ es hidrógeno o alquilo C₁₋₆ o cicloalquilo C₃₋₈ de cadena lineal o ramificada;
R² es hidrógeno, alquilo C₁₋₆ de cadena lineal o ramificada;

- 5 cada uno de R³ y R⁵ es, independientemente, hidrógeno, SO₃H, alquilo C₁₋₆ de cadena lineal o ramificada, CH₂OH, CH₂OMe, alcoxi C₁₋₆ de cadena lineal o ramificada, carboxil (COOH), un grupo no éster que puede convertirse en las condiciones fisiológicas de un mamífero en un grupo carboxilo, éster del ácido carboxílico (COOR, en el que R es alquilo C₁₋₁₀, arilo C₆₋₁₀, aralquilo C₇₋₁₀), hidroximetil éster (CH₂OC(O)-R, en el que R es como se ha definido anteriormente), CONH₂, CONHR, CONR₂, CH₂OCONHR, CN, CH=NHNHCONH₂ y halógeno; y
- 10 R⁴ es hidrógeno, halógeno, R₃Si o COR, y un vehículo; y un dispositivo anticonceptivo de barrera; en el que dicho primer compuesto de fórmula I(a) y dicho segundo compuesto de fórmula I (a) pueden ser iguales o diferentes.

- 15 7. El procedimiento de la reivindicación 6, en el que el primer compuesto es un primer compuesto de fórmula I(b):



- 20 8. El procedimiento de la reivindicación 6, en el que en dicho primer compuesto de fórmula I(a), R¹ es un miembro seleccionado entre el grupo constituido por hidrógeno, metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo, iso-butilo, n-pentilo, iso-pentilo, n-hexilo, iso-hexilo, ciclopropilo, ciclopentilo y ciclohexilo; R² es un miembro seleccionado entre el grupo constituido por hidrógeno, metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo, iso-butilo, n-pentilo, iso-pentilo, n-hexilo e iso-hexilo;

R³ está en la posición 4 y es un miembro seleccionado entre el grupo constituido por hidrógeno, hidroximetil (CH₂OH), formil (CHO), carboxil (COOH), éster del ácido carboxílico (COOR, en el que R es alquilo C₁₋₁₀, arilo C₆₋₁₀ o aralquilo C₇₋₁₀), hidroximetil éster (CH₂OC(O)-R, en el que R es como se ha definido anteriormente), CONH₂, CONHR, CONR₂, CH₂OCONHR, CN, CH=NHNHCONH₂ y halógeno;

5 R⁵ es hidrógeno; y

R⁴ es un miembro seleccionado entre el grupo constituido por hidrógeno y halógeno.

9. El procedimiento de la reivindicación 8, en el que en dicho primer compuesto de fórmula I(a), R¹ es metilo, etilo, n-propilo o iso-propilo;

10 R² es metilo, etilo, n-propilo o iso-propilo;

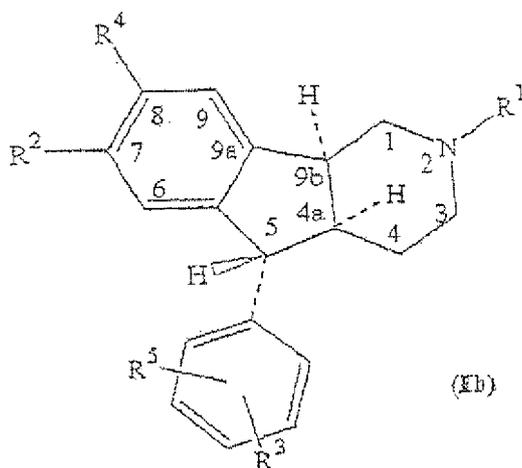
R³ es 4-COOH o 4-COOR, en el que R es como se ha definido anteriormente;

R⁵ es hidrógeno; y

R⁴ es halógeno.

15 10. El procedimiento de la reivindicación 6, en el que dicho dispositivo anticonceptivo de barrera es un miembro seleccionado entre el grupo constituido por diafragmas, esponjas anticonceptivas y condones.

11. El procedimiento de la reivindicación 6, en el que el primer compuesto es un segundo compuesto de fórmula I(b):



20 12. El procedimiento de la reivindicación 6, en el que dicho segundo compuesto de fórmula I(a), R¹ es un miembro seleccionado entre el grupo constituido por hidrógeno, metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo, iso-butilo, n-pentilo, iso-pentilo, n-hexilo, iso-hexilo, ciclopropilo, ciclopentilo y ciclohexilo;

25 R² es un miembro seleccionado entre el grupo constituido por hidrógeno, metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo, iso-butilo, n-pentilo, iso-pentilo, n-hexilo e iso-hexilo;

30 R³ está en la posición 4 y es un miembro seleccionado entre el grupo constituido por hidrógeno, hidroximetil (CH₂OH), formil (CHO), carboxil (COOH), éster del ácido carboxílico (COOR, en el que R es alquilo C₁₋₁₀, arilo C₆₋₁₀ o aralquilo C₇₋₁₀), hidroximetil éster (CH₂OC(O)-R, en el que R es como se ha definido anteriormente), CONH₂, CONH, CONR₂, CH₂OCONHR, CN, CH=NHNHCONH₂ y halógeno;

R⁵ es hidrógeno; y

R⁴ es un miembro seleccionado entre el grupo constituido por hidrógeno y halógeno.

35 13. El procedimiento de la reivindicación 12, en el que en dichos segundos compuestos de fórmula I(a), R¹ es metilo, etilo, n-propilo o iso-propilo;

R² es metilo, etilo, n-propilo o iso-propilo;

R³ es 4-COOH o 4-COOR, en el que R es como se ha definido anteriormente;

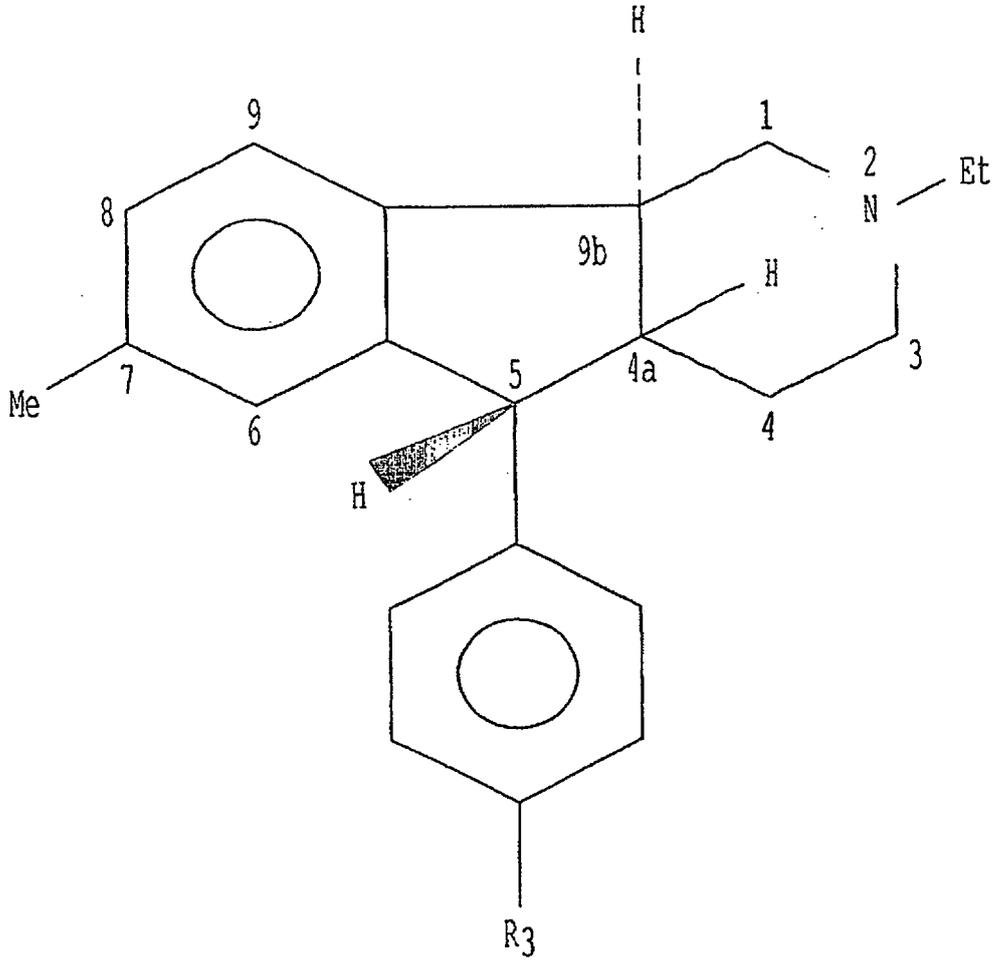
R⁵ es hidrógeno; y

R⁴ es halógeno.

40 14. El procedimiento de la reivindicación 6, en el que dicho primer compuesto de fórmula I(a) y dicho

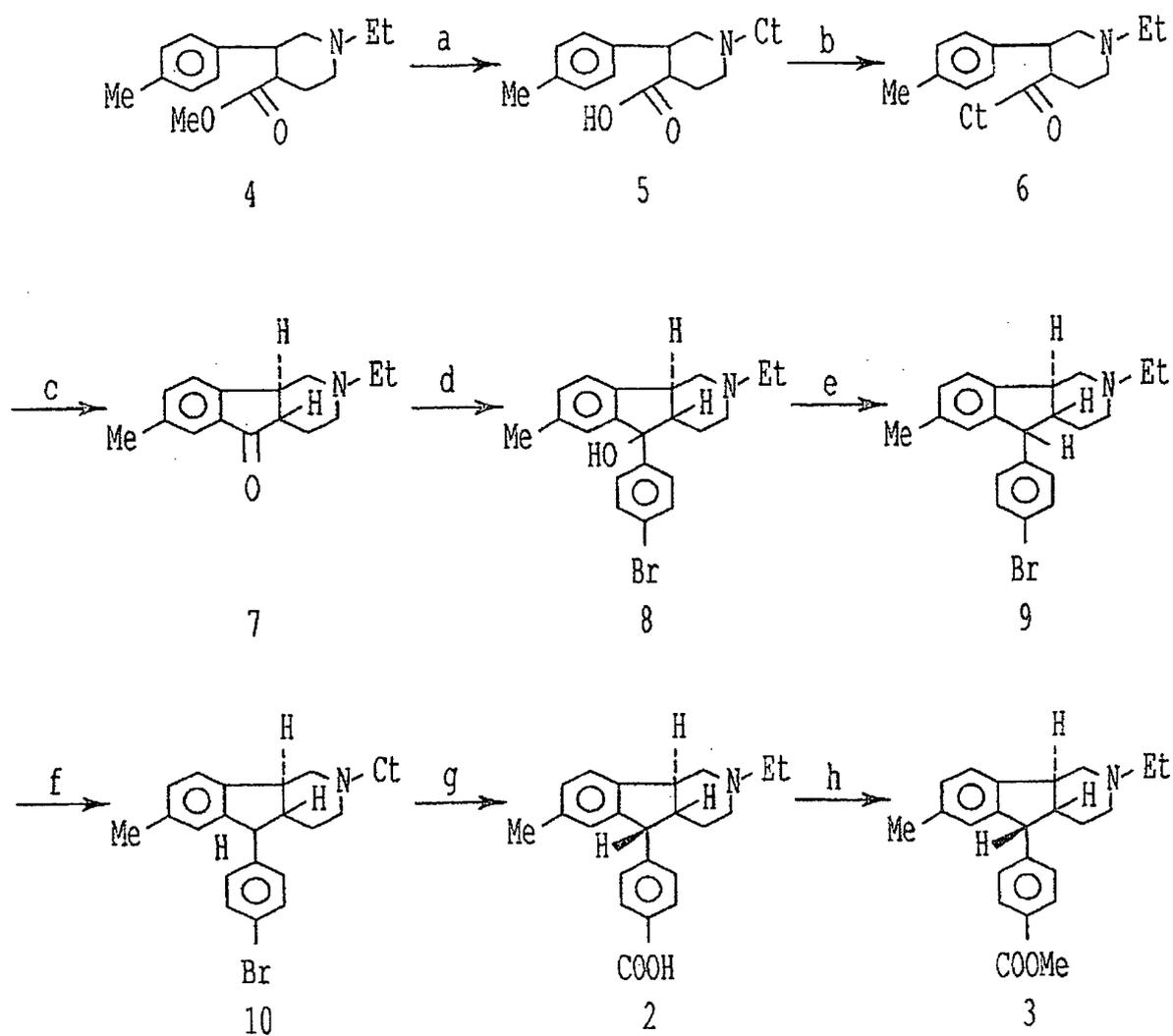
segundo compuesto de fórmula I(a) son el mismo.

- 5 15. El procedimiento de la reivindicación 6, en el que dicho primer compuesto de fórmula I(a) y dicho segundo compuesto de fórmula I(a) son diferentes.
16. El procedimiento de la reivindicación 7, en el que dicho primer compuesto de fórmula I(a) y dicho segundo compuesto de fórmula I(a) son el mismo.
- 10 17. El procedimiento de la reivindicación 7, en el que dicho primer compuesto de fórmula I(a) y dicho segundo compuesto de fórmula I(a) son diferentes.
18. El procedimiento de la reivindicación 8, en el que dicho primer compuesto de fórmula I(a) y dicho segundo compuesto de fórmula I(a) son el mismo.
- 15 19. El procedimiento de la reivindicación 8, en el que dicho primer compuesto de fórmula I(a) y dicho segundo compuesto de fórmula I(a) son diferentes.
- 20 20. El procedimiento de la reivindicación 9, en el que dicho primer compuesto de fórmula I(a) y dicho segundo compuesto de fórmula I(a) son el mismo.
21. El procedimiento de la reivindicación 9, en el que dicho primer compuesto de fórmula I(a) y dicho segundo compuesto de fórmula I(a) son diferentes.
- 25 22. El procedimiento de la reivindicación 10, en el que dicho primer compuesto de fórmula I(a) y dicho segundo compuesto de fórmula I(a) son el mismo.
23. El procedimiento de la reivindicación 10, en el que dicho primer compuesto de fórmula I(a) y dicho segundo compuesto de fórmula I(a) son diferentes.
- 30 24. El procedimiento de la reivindicación 11, en el que dicho primer compuesto de fórmula I(a) y dicho segundo compuesto de fórmula I(a) son el mismo.
- 35 25. El procedimiento de la reivindicación 11, en el que dicho primer compuesto de fórmula I(a) y dicho segundo compuesto de fórmula I(a) son diferentes.
26. El procedimiento de la reivindicación 12, en el que dicho primer compuesto de fórmula I(a) y dicho segundo compuesto de fórmula I(a) son el mismo.
- 40 27. El procedimiento de la reivindicación 12, en el que dicho primer compuesto de fórmula I(a) y dicho segundo compuesto de fórmula I(a) son diferentes.
28. El procedimiento de la reivindicación 13, en el que dicho primer compuesto de fórmula I(a) y dicho segundo compuesto de fórmula I(a) son el mismo.
- 45 29. El procedimiento de la reivindicación 13, en el que dicho primer compuesto de fórmula I(a) y dicho segundo compuesto de fórmula I(a) son diferentes.



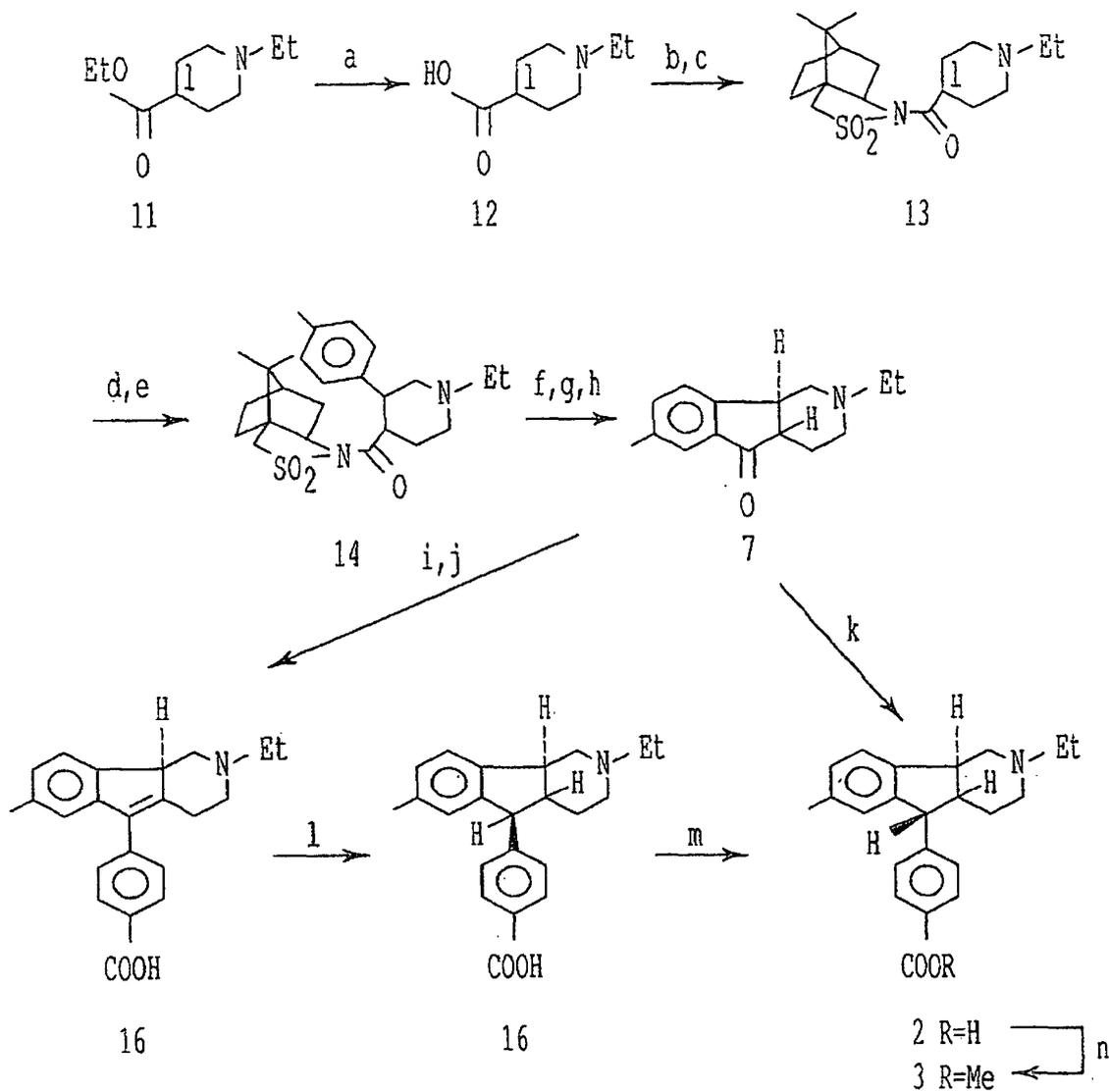
1. $R_3 = \text{CH}_3$
2. $R_3 = \text{COOH}$
3. $R_3 = \text{COOMe}$

FIG. 1



- | | |
|--|----------------------------|
| a) HCl/H ₂ O, heat | f) KOH, n-BuOH, calor |
| b) SOCl ₂ | g) n-BULi; CO ₂ |
| c) AlCl ₃ | h) SOCl ₂ MeOH |
| d) p-BrC ₆ H ₄ Li | |
| e) BF ₃ , Et ₃ SiH | |

FIG. 2



a) HCl/H₂O

b) SOCl₂

c) R(+)-o S(-)2,10-canforsultama

d) bromuro de p-tolilmagnesio 2 mol

e) ac. NH₄Cl

f) LiOH₂

g) SOCl₂

h) AlCl₃

i) ácido p-bromobenzoico, n-BuLi

j) HCl/H₂O

k) véase la figura 2, etapas d-g

l) H₂/catalizador

m) KOH, n-BuOH, reflujo

n) MeOH, SOCl₂

FIG. 3

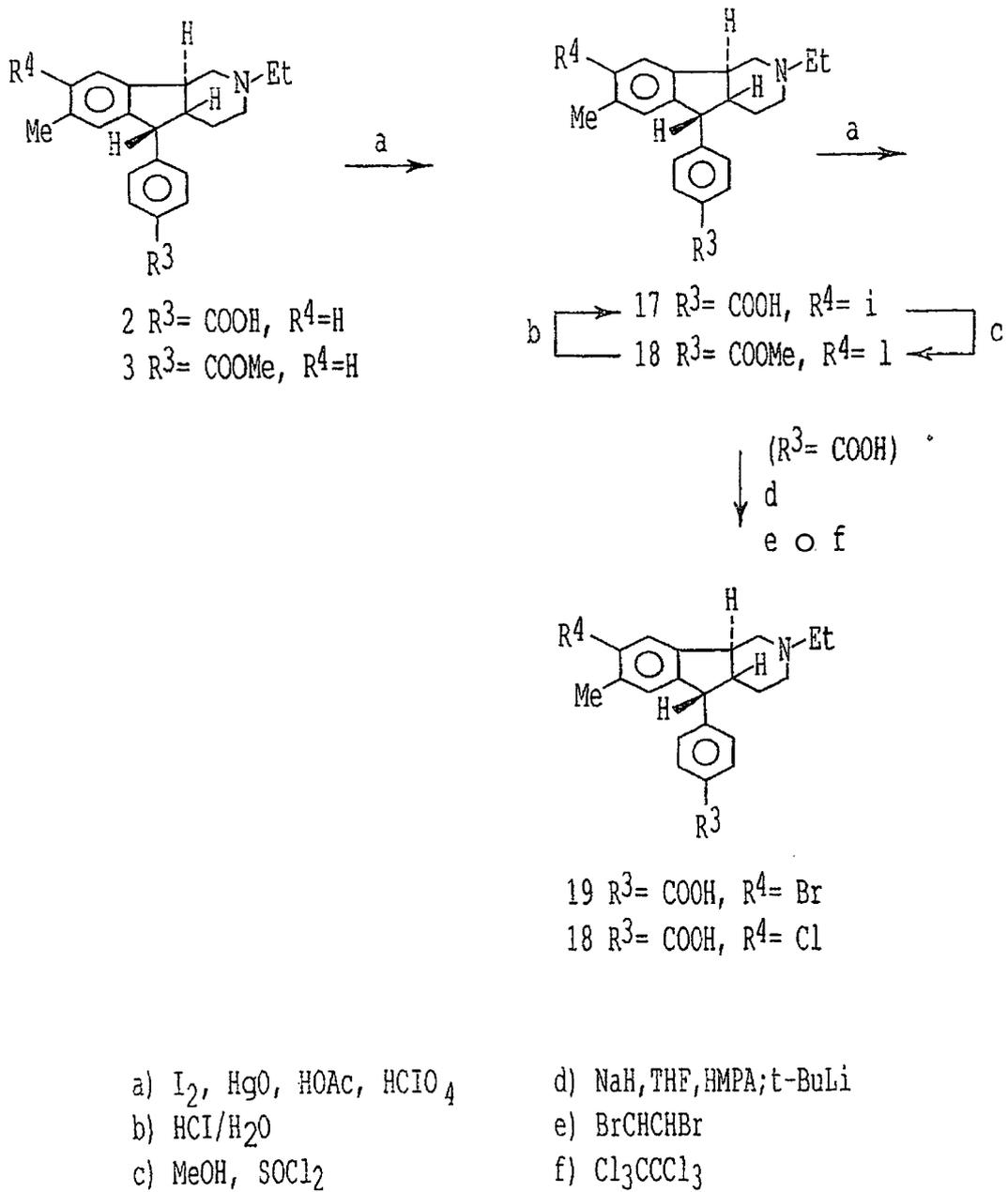


FIG. 4

Referencias citadas en la descripción

Este listado de referencias citadas por el solicitante tiene como único fin la conveniencia del lector. No forma parte del documento de la Patente Europea. Aunque se ha puesto gran cuidado en la compilación de las referencias, no pueden excluirse errores u omisiones y la OEP rechaza cualquier responsabilidad en este sentido.

Documentos de patentes citados en la descripción

- US 2470108 A [0015]
- US 2470109 A [0015]
- US 2546652 A [0015]
- US 3627773 A [0015]
- US 3678057 A [0015] [0060]
- US 3462443 A [0015]
- US 3408353 A [0015]
- US 3497517 A [0015]
- US 3574686 A [0015]
- US 3678058 A [0015]
- US 3991066 A [0015]
- US 5319084 A [0016] [0024] [0061] [0062] [0088] [0095]
- US 5952336 A [0016]
- US 5329084 A [0060]

Bibliografía distinta de patentes citada en la descripción

- From New Scientist, 20 de abril de 1994, vol. 142 (1923) [0003]
- Drug Store News, 29 de noviembre de 1999, vol. 21 (ii9), 29 [0004]
- Arch. Toxicol., 1984, vol. 7, 171-173 [0014]
- Arch. Toxicol., 1978, vol. 1, 323-326 [0014]
- Mutation Research, 1979, vol. 66, 113-127 [0014]
- J. M. Whitsett; P. F. Noden ; J. Cherry ; A. D. Lawton. *J. Reprod. Fertil.*, 1984, vol. 72, 277 [0042]
- C. E. Cook y col. *J. Med. Chem.*, 1995, vol. 38, 753 [0060]
- De Mio y col. *Tetrahedron*, 1993, vol.49, 8129-8138 [0064]
- Cook y col. *J. Med. Chem.*, 1995, vol. 38, 753-763 [0063]