



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 364 575**

51 Int. Cl.:

C07D 513/04 (2006.01)

C07D 487/04 (2006.01)

C07D 498/04 (2006.01)

A61K 31/4985 (2006.01)

A61K 31/5383 (2006.01)

A61K 31/542 (2006.01)

A61K 31/4439 (2006.01)

A61K 31/551 (2006.01)

A61P 25/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **06777183 .2**

96 Fecha de presentación : **07.09.2006**

97 Número de publicación de la solicitud: **1928886**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **11.06.2008**

54 Título: **Derivados de piridina y su uso en el tratamiento de trastornos psicóticos.**

30 Prioridad: **09.09.2005 GB 0518472**
06.06.2006 GB 0611153

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
07.09.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
07.09.2011

73 Titular/es: **GLAXOSMITHKLINE L.L.C.**
One Franklin Plaza 200 North 16th Street
Philadelphia, Pennsylvania 19102, US

72 Inventor/es: **Alvaro, Giuseppe;**
Andreotti, Daniele;
Belvedere, Sandro;
Di Fabio, Romano;
Falchi, Alessandro y
Giovannini, Riccardo

74 Agente: **Elzaburu Márquez, Alberto**

ES 2 364 575 T3

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

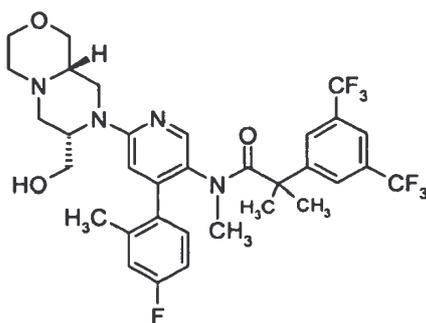
DESCRIPCIÓN

Derivados de piridina y su uso en el tratamiento de trastornos psicóticos

La presente invención se refiere a nuevos derivados bicíclicos que contienen nitrógeno que tienen actividad farmacológica, procedimientos para su preparación, a composiciones que los contienen y a su uso en el tratamiento de trastornos psicóticos, en particular esquizofrenia.

El documento WO 2005/002577 (F. Hoffmann-La Roche AG) describe una serie de derivados de piridina que se reivindica que son antagonistas duales de NK1/NK3 para tratar la esquizofrenia.

La presente invención proporciona, en un primer aspecto, el compuesto de la fórmula (I) que es 2-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]-N-{4-(4-fluoro-2-metilfenil)-6-[(7S,9aS)-7-(hidroximetil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-3-piridinil}-N,2-dimetilpropanamida o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



(I)

El compuesto de la fórmula (I) puede formar sales de adición de ácidos con ácidos, tales como ácidos convencionales farmacéuticamente aceptables, por ejemplo maleico, clorhídrico, bromhídrico, fosfórico, acético, fumárico, salicílico, sulfato, cítrico, láctico, mandélico, tartárico y metanosulfónico. Las sales, solvatos e hidratos del compuesto de la fórmula (I) por lo tanto forman un aspecto de la invención.

Tal como se usa en la presente memoria, el término "sal" se refiere a cualquier sal de un compuesto de acuerdo con la presente invención preparada a partir de un ácido o base inorgánica u orgánica, sales de amonio cuaternario y sales formadas internamente. Las sales fisiológicamente aceptables son particularmente adecuadas para las aplicaciones médicas debido a su mayor solubilidad en agua comparada con la de los compuestos progenitores. Tales sales claramente deben tener un anión o catión fisiológicamente aceptable. De forma adecuada las sales fisiológicamente aceptables de los compuestos de la presente invención incluyen sales de adición de ácidos formadas con ácidos inorgánicos tales como clorhídrico, bromhídrico, yodhídrico, fosfórico, metafosfórico, nítrico y sulfúrico y con ácidos orgánicos, tales como ácidos tartárico, acético, trifluoroacético, cítrico, málico, láctico, fumárico, benzoico, fórmico, propiónico, glicólico, glucónico, maleico, succínico, alcanforsulfúrico, isotiónico, múxico, gentísico, isonicotínico, sacárico, glucurónico, furoico, glutámico, ascórbico, antranílico, salicílico, fenilacético, mandélico, embónico (pamoico), metanosulfónico, etanosulfónico, pantoténico, esteárico, sulfínico, algínico, galacturónico y arilsulfónico, por ejemplo bencenosulfónico y p-toluenosulfónico; las sales de adición de bases se forman con metales alcalinos y metales alcalinotérreos y bases orgánicas tales como N,N-dibenciletildiamina, clorprocaína, colina, dietanolamina, etilendiamina, meglumaína (N-metilglucamina), lisina y procaína; y sales formadas internamente. Las sales que tienen un anión o catión fisiológicamente inaceptable están dentro del alcance de la invención como intermedios útiles para la preparación de sales fisiológicamente aceptables y/o para usar en situaciones no terapéuticas, por ejemplo, *in vitro*.

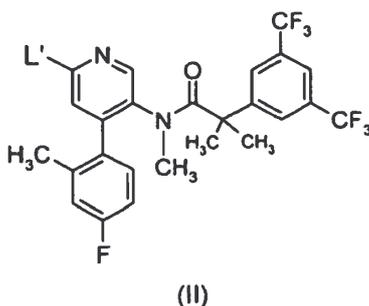
La presente invención también incluye compuestos marcados isotópicamente, que son idénticos a los que se citan en la fórmula (I) y siguientes, excepto por el hecho de que uno o más átomos están reemplazados por un átomo que tiene una masa atómica o un número másico diferente de la masa atómica o número másico que se encuentra habitualmente en la naturaleza. Ejemplos de isótopos que pueden incorporarse a compuestos de la invención y sus sales farmacéuticamente aceptables incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, azufre, flúor, yodo, y cloro, tales como ^2H , ^3H , ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{17}O , ^{18}O , ^{31}P , ^{32}P , ^{35}S , ^{18}F , ^{36}Cl , ^{123}I y ^{125}I .

Los compuestos de la presente invención y sales farmacéuticamente aceptables de dichos compuestos que contienen los isótopos mencionados anteriormente y/u otros isótopos de otros átomos están dentro del alcance de la presente invención. Los compuestos marcados isotópicamente de la presente invención, por ejemplo aquellos que incorporan isótopos radiactivos tales como ^3H , ^{14}C , son útiles en los ensayos de distribución en tejido de fármaco y/o tejido sustrato. Los isótopos tritados, es decir, ^3H , y carbono 14, es decir, ^{14}C , son particularmente preferidos por la facilidad de su preparación y detectabilidad. Los isótopos ^{11}C y ^{18}F son

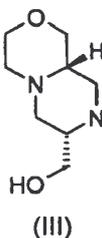
particularmente útiles en la PET (tomografía de emisión de positrones), y los isótopos ^{125}I son particularmente útiles en la SPECT (tomografía computarizada de emisión de fotones únicos), ambas útiles en la obtención de imágenes del cerebro. Además, la sustitución con isótopos más pesados tales como deuterio, es decir ^2H , puede proporcionar ciertas ventajas terapéuticas debidas a una mayor estabilidad metabólica, por ejemplo una semivida aumentada *in vivo* o una necesidad de dosis menores y, por lo tanto, puede preferirse en algunas circunstancias. Los compuestos marcados isotópicamente de la fórmula I y siguientes de esta invención generalmente pueden prepararse realizando los procedimientos que se describen en los Esquemas y/o en los Ejemplos más adelante, sustituyendo un reactivo no marcado isotópicamente por un reactivo marcado isotópicamente fácilmente disponible.

La presente invención también proporciona un procedimiento para la preparación de un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, procedimiento que comprende:

(a) hacer reaccionar un compuesto de la fórmula (II)



en la que L representa un grupo saliente adecuado tal como un átomo de halógeno (por ejemplo cloro), con un compuesto de la fórmula (III)



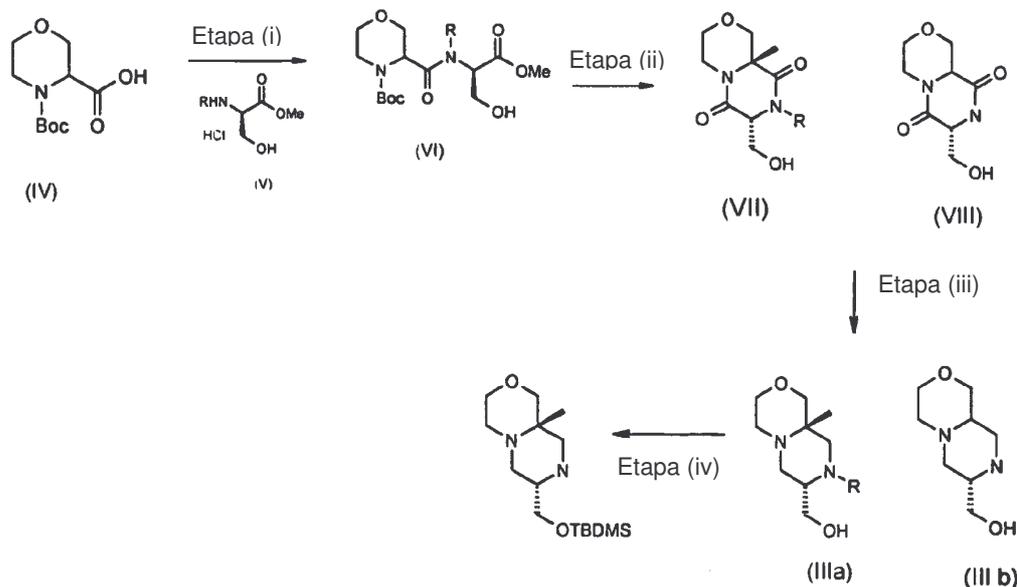
o un derivado del mismo opcionalmente protegido, opcionalmente después de eso seguido de desprotección del compuesto de la fórmula (I) que está protegido.

En una realización, la etapa de desprotección puede efectuarse sobre el derivado en el que el grupo hidroxilo está protegido en forma de un derivado O-TBDMS, en un disolvente adecuado tal como tolueno, en presencia de un catalizador adecuado tal como bis-tri-terc-butilfosfina paladio, una base adecuada tal como hidróxido sódico acuoso y un catalizador de transferencia de fase adecuado tal como cloruro de hexadeciltrimetilamonio acuoso a una temperatura tal como 80-95 °C. Este procedimiento puede continuar con la eliminación del grupo protector TBDMS usando fluoruro de tetrabutilamonio en un disolvente adecuado tal como THF, o ácido clorhídrico en un disolvente adecuado tal como metanol.

Ejemplos de grupos protectores y los medios para su eliminación pueden encontrarse T. W. Greene "Protective Groups in Organic Synthesis" (J. Wiley y Sons, 1991). Los grupos protectores de amina adecuados incluyen sulfonilo (por ejemplo tosilo), acilo (por ejemplo acetilo, 2',2',2'-tricloroetoxicarbonilo, benciloxicarbonilo o t-butoxicarbonilo) y arilalquilo (por ejemplo bencilo), que pueden eliminarse mediante hidrólisis (por ejemplo usando un ácido tal como ácido clorhídrico en dioxano o ácido trifluoroacético en diclorometano) o por reducción (por ejemplo hidrogenólisis de un grupo bencilo o eliminación reductora de un grupo 2',2',2'-tricloroetoxicarbonilo usando cinc en ácido acético) según sea apropiado. Otros grupos protectores de amina adecuados incluyen trifluoroacetilo (-COCF₃) que puede eliminarse por hidrólisis catalizada por base o un grupo bencilo unido a una resina en fase sólida, tal como un grupo 2,6-dimetoxibencilo unido a resina de Merrifield (enlazador de Ellman), que puede eliminarse mediante hidrólisis catalizada por ácido, por ejemplo con ácido trifluoroacético.

Un compuesto de la fórmula (II) puede prepararse de acuerdo con la metodología que se proporciona en el documento WO 2005/002577.

El compuesto de la fórmula (III) en donde el grupo hidroxilo está protegido como el derivado TBDMS, puede prepararse de acuerdo con el esquema siguiente:



en el que P¹ representa un grupo protector adecuado tal como Boc.

5 La etapa (i) típicamente comprende hacer reaccionar el ácido carboxílico (IV) con la amina de fórmula (V), en donde R es hidrógeno o un grupo protector de nitrógeno adecuado (v.g. un grupo bencilo) en un disolvente adecuado tal como diclorometano, en presencia de un reactivo de acoplamiento adecuado tal como tetrafluoroborato de O-benzotriazol-1-il-N,N,N',N'-tetrametiluronio (TBTU) y una base adecuada tal como diisopropiletilamina a una temperatura adecuada, tal como la temperatura ambiente.

10 La etapa (ii) típicamente comprende la desprotección de (VI) usando un reactivo adecuado tal como ácido trifluoroacético, seguido de purificación en un cartucho de sílice SCX (intercambio catiónico fuerte, por sus siglas en inglés) y ciclación subsiguiente a una temperatura adecuada, tal como 50°C, para dar el compuesto (VII) cuando R es un grupo bencilo y para dar el compuesto (VIII) cuando R es hidrógeno.

15 La etapa (iii) típicamente comprende reducción de (VII) u (VIII) usando un agente reductor adecuado tal como BH₃-THF a una temperatura adecuada tal como reflujo para dar (IIIa) y (IIIb), respectivamente.

La etapa (iv) típicamente comprende la reacción de (IIIa) o (IIIb) con cloruro de *tert*-butildimetilsililo (TBDMSCl) en un disolvente adecuado, tal como diclorometano, en presencia de una base adecuada, tal como trietilamina a una temperatura adecuada, tal como temperatura ambiente. La reacción de (IIIa) va seguida de la eliminación del grupo bencilo y la reacción de (IIIb) va seguida de la separación del diastereoisómero requerido.

20 Los compuestos de las fórmulas (IV) y (V) o son conocidos o pueden prepararse de acuerdo con procedimientos conocidos.

Los compuestos de la fórmula (I) y sus sales farmacéuticamente aceptables tienen afinidad y son antagonistas del receptor NK1 y NK3 y así pueden usarse en el tratamiento de trastornos psicóticos.

25 En el contexto de la presente invención, los términos que describen las indicaciones que se usan en la presente memoria se clasifican en el Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 4^a Edición, publicado por la American Psychiatric Association (DSM-IV) y/o The International Classification of Diseases, 10^a Edición (ICD-10). Los diversos subtipos de los trastornos que se mencionan en la presente memoria se contemplan como parte de la presente invención. Los números entre paréntesis después de las enfermedades que se enumeran a continuación se refieren al código de clasificación del DSM-IV.

30 En el contexto de la presente invención, el término "trastorno psicótico" incluye:

Esquizofrenia que incluye los subtipos Tipo paranoide (295.30), Tipo desorganizado (295.10), Tipo catatónico (295.20), Tipo no diferenciado (295.90) y Tipo residual (295.60); Trastorno esquizofreniforme (295.40); Trastorno esquizoafectivo (295.70) que incluye los subtipos Tipo Bipolar y Tipo Depresivo; Trastorno delirante (297.1) que incluye los subtipos Tipo erotomaniaco, Tipo grandioso, Tipo celoso, Tipo persecutorio, Tipo somático, Tipo mixto y Tipo sin especificar; Trastorno psicótico breve (298.8); Trastorno psicótico compartido (297.3); Trastorno psicótico debido a una afección médica general que incluye los subtipos Delirante y Con

alucinaciones; Trastorno psicótico inducido por sustancias que incluye los subtipos Delirante (293.81) y Con alucinaciones (293.82); y Trastorno psicótico sin especificar (298.9).

Los compuestos de la fórmula (I) y sus sales y solvatos farmacéuticamente aceptables también pueden ser útiles en el tratamiento de los siguientes trastornos:-

- 5 Depresión y trastornos del estado de ánimo que incluyen Episodio depresivo mayor, Episodio maníaco, Episodio mixto y Episodio hipomaniaco; Trastornos depresivos que incluyen Trastorno depresivo mayor, Trastorno distímico (300.4), Trastorno depresivo sin especificar (311); Trastornos bipolares que incluyen Trastorno bipolar I, Trastorno bipolar II (Episodios depresivos mayores recurrentes con Episodios hipomaniacos) (296.89), Trastorno ciclotímico (301.13) y Trastorno bipolar sin especificar (296.80); Otros
- 10 Trastornos del estado de ánimo que incluyen Trastorno del estado de ánimo debido a una afección médica general (293.83) que incluye los subtipos Con características depresivas, Con episodio tipo depresivo mayor, con características maníacas y con características mixtas), Trastorno del estado de ánimo inducido por sustancias (que incluye los subtipos con características depresivas, con características maníacas y con características mixtas) y Trastorno del estado de ánimo sin especificar (296.90).
- 15 Los trastornos de ansiedad que incluyen Ataque de pánico; Trastorno de pánico que incluye Trastorno de pánico sin agorafobia (300.01) y Trastorno de pánico con agorafobia (300.21); Agorafobia; Agorafobia sin historia de trastorno de pánico (300.22), Fobia específica (300.29, anteriormente denominada Fobia simple) que incluye los subtipos Tipo animal, Tipo entorno natural, Tipo sangre-inyección-lesión, Tipo de situaciones y Otro tipo), Fobia social (Trastorno de ansiedad social, 300.23), Trastorno obsesivo-compulsivo (300.3), Trastorno de
- 20 estrés postraumático (309.81), Trastorno de estrés agudo (308.3), Trastorno de ansiedad generalizada (300.02), Trastorno de ansiedad debido a una afección médica general (293.84), Trastorno de ansiedad inducido por sustancias, Trastorno de ansiedad por separación (309.21), Trastornos de ajuste con ansiedad (309.24) y Trastorno de ansiedad sin especificar (300.00).

- 25 Trastornos relacionados con sustancias que incluyen Trastornos por sustancias de abuso tales como Dependencia de sustancias, Aidez por sustancias y Abuso de sustancias; Trastornos inducidos por sustancias tales como Intoxicación por sustancias, Abstinencia de sustancias, Delirio inducido por sustancias, Demencia persistente inducida por sustancias, Trastorno amnésico persistente inducido por sustancias, Trastorno psicótico inducido por sustancias, Trastorno conductual inducido por sustancias, Trastorno de ansiedad inducido por sustancias, Disfunción sexual inducida por sustancias, Trastorno del sueño inducido por
- 30 sustancias y Trastorno de la percepción persistente por alucinógenos (Flashbacks); Trastornos relacionados con el alcohol tales como Dependencia del alcohol (303.90), Abuso del alcohol (305.00), Intoxicación por alcohol (303.00), Abstinencia del alcohol (291.81), Delirio por intoxicación con alcohol, Delirio por abstinencia del alcohol, Demencia persistente inducida por el alcohol, Trastorno amnésico persistente inducido por el alcohol, Trastorno psicótico inducido por el alcohol, Trastorno conductual inducido por el alcohol, Trastorno de
- 35 ansiedad inducido por el alcohol, Disfunción sexual inducida por el alcohol, Trastorno del sueño inducido por el alcohol y Trastorno relacionado con el alcohol sin especificar (291.9); Trastornos relacionados con las anfetaminas (o sustancias anfetaminoides) tales como Dependencia de anfetaminas (304.40), Abuso de anfetaminas (305.70), Intoxicación por anfetaminas (292.89), Abstinencia de anfetaminas (292.0), Delirio por intoxicación con anfetaminas, Trastorno psicótico inducido por anfetaminas, Trastorno conductual inducido por anfetaminas, Trastorno de ansiedad inducido por anfetaminas, Disfunción sexual inducida por anfetaminas, Trastorno del sueño inducido por anfetaminas y Trastorno relacionado con las anfetaminas sin especificar (292.9); Trastornos relacionados con la cafeína tales como Intoxicación por cafeína (305.90), Trastorno de
- 40 ansiedad inducido por la cafeína, Trastorno del sueño inducido por la cafeína y Trastorno relacionado con la cafeína sin especificar (292.9); Trastornos relacionados con el cánnabis tales como Dependencia del cánnabis (304.30), Abuso del cánnabis (305.20), Intoxicación por cánnabis (292.89), Delirio por intoxicación con cánnabis, Trastorno psicótico inducido por cánnabis, Trastorno de ansiedad inducido por cánnabis y Trastorno relacionado con el cánnabis sin especificar (292.9); Trastornos relacionados con la cocaína tales como Dependencia de cocaína (304.20), Abuso de cocaína (305.60), Intoxicación por cocaína (292.89), Abstinencia de cocaína (292.0), Delirio por intoxicación con cocaína, Trastorno psicótico inducido por cocaína, Trastorno
- 45 conductual inducido por cocaína, Trastorno de ansiedad inducido por cocaína, Disfunción sexual inducida por cocaína, Trastorno del sueño inducido por cocaína y Trastorno relacionado con la cocaína sin especificar (292.9); Trastornos relacionados con alucinógenos tales como Dependencia de alucinógenos (304.50), Abuso de alucinógenos (305.30), Intoxicación por alucinógenos (292.89), Trastorno de percepción persistente por alucinógenos (Flashbacks) (292.89), Delirio por intoxicación con alucinógenos, Trastorno psicótico inducido por alucinógenos, Trastorno conductual inducido por alucinógenos, Trastorno de ansiedad inducido por alucinógenos y Trastorno relacionado con los alucinógenos sin especificar (292.9); Trastornos relacionados con sustancias inhaladas tales como Dependencia de sustancias inhaladas (304.60), Abuso de sustancias inhaladas (305.90), Intoxicación por sustancias inhaladas (292.89), Delirio por intoxicación con sustancias inhaladas, Demencia persistente inducida por sustancias inhaladas, Trastorno psicótico inducido por sustancias
- 50 inhaladas, Trastorno conductual inducido por sustancias inhaladas, Trastorno de ansiedad inducido por sustancias inhaladas y Trastorno relacionado con sustancias inhaladas sin especificar (292.9); Trastornos relacionados con la nicotina tales como Dependencia de la nicotina (305.1), Abstinencia de la nicotina (292.0) y Trastorno relacionado con la nicotina sin especificar (292.9); Trastornos relacionados con opioides tales como
- 55
- 60

Dependencia de opioides (304.00), Abuso de opioides (305.50), Intoxicación por opioides (292.89), Abstinencia de opioides (292.0), Delirio por intoxicación con opioides, Trastorno psicótico inducido por opioides, Trastorno conductual inducido por opioides, Disfunción sexual inducida por opioides, Trastorno del sueño inducido por opioides y Trastorno relacionado con opioides sin especificar (292.9); Trastornos relacionados con fenciclidina (o sustancias tipo fenciclidina) tales como Dependencia de fenciclidina (304.60), Abuso de fenciclidina (305.90), Intoxicación por fenciclidina (292.89), Delirio por intoxicación con fenciclidina, Trastorno psicótico inducido por fenciclidina, Trastorno conductual inducido por fenciclidina, Trastorno de ansiedad inducido por fenciclidina y Trastorno relacionado con fenciclidina sin especificar (292.9); Trastornos relacionados con sedantes, hipnóticos o ansiolíticos tales como Dependencia de sedantes, hipnóticos o ansiolíticos (304.10), Abuso de sedantes, hipnóticos o ansiolíticos (305.40), Intoxicación por sedantes, hipnóticos o ansiolíticos (292.89), Abstinencia de sedantes, hipnóticos o ansiolíticos (292.0), Delirio por intoxicación con sedantes, hipnóticos o ansiolíticos, Delirio por abstinencia de sedantes, hipnóticos o ansiolíticos, Demencia persistente por sedantes, hipnóticos o ansiolíticos, Trastorno amnésico persistente por sedantes, hipnóticos o ansiolíticos, Trastorno psicótico inducido por sedantes, hipnóticos o ansiolíticos, Trastorno conductual inducido por sedantes, hipnóticos o ansiolíticos, Trastorno de ansiedad inducido por sedantes, hipnóticos o ansiolíticos, Disfunción sexual, inducida por sedantes, hipnóticos o ansiolíticos, Trastorno del sueño inducido por sedantes, hipnóticos o ansiolíticos, Trastorno relacionado con sedantes, hipnóticos o ansiolíticos sin especificar (292.9); Trastorno relacionado con sustancias múltiples tales como Dependencia de sustancias múltiples (304.80); y Trastornos relacionados con otras sustancias (o desconocidas) tales como esteroides anabolizantes, sustancias inhaladas de nitrato y óxido nítrico.

Trastornos del sueño que incluyen trastornos del sueño primarios tales como Disomnias tales como Insomnio primario (307.42), Hipersomnia primaria (307.44), Narcolepsia (347), Trastornos del sueño relacionados con la respiración (780.59), Trastorno del sueño del ritmo circadiano (307.45) y Disomnia sin especificar (307.47); Trastornos del sueño primarios tales como Parasomnias tales como Trastorno de pesadillas (307.47), Trastorno de terror en el sueño (307.46), Trastorno de sonambulismo (307.46) y Parasomnia sin especificar (307.47); Trastornos del sueño relacionados con otro trastorno mental tales como Insomnio relacionado con otro trastorno mental (307.42) e Hipersomnia relacionada con otro trastorno mental (307.44); Trastorno del sueño debido a una afección médica general, en particular alteraciones del sueño asociadas a enfermedades tales como trastornos neurológicos, dolor neuropático, síndrome de piernas inquietas, enfermedades de corazón y pulmón; y Trastorno del sueño inducido por sustancias que incluye los subtipos Tipo insomnio, Tipo hipersomnia, Tipo parasomnia y Tipo mixto; Apnea del sueño y síndrome de cambio horario.

Trastornos de la alimentación tales como Anorexia nerviosa (307.1) que incluyen los subtipos Tipo restrictivo y Tipo atracón/purga; Bulimia nerviosa (307.51) que incluye los subtipos Tipo purgante y Tipo no purgante; Obesidad; Trastorno de alimentación compulsiva; Trastorno de atracón; y Trastorno de la alimentación sin especificar (307.50):

Trastornos del espectro del autismo que incluyen Trastorno autista (299.00), Trastorno de Asperger (299.80), Trastorno de Rett (299.80), Trastorno desintegrador de la infancia (299.10) y Trastorno generalizado sin especificar (299.80, que incluye Autismo atípico).

Trastorno de déficit de atención/hiperactividad que incluye los subtipos Trastorno de déficit de atención/hiperactividad de tipo combinado (314.01), Trastorno de déficit de atención/hiperactividad predominantemente de tipo de falta de atención (314.00), Trastorno de déficit de atención/hiperactividad de tipo hiperactivo-impulsivo (314.01) y Trastorno de déficit de atención/hiperactividad sin especificar (314.9); Trastorno hiperactivo-impulsivo; Trastornos de conducta alterada tales como Trastorno de la conducta que incluye los subtipos de tipo de inicio en la infancia (321.81), tipo de inicio en la adolescencia (312.82) y de inicio sin especificar (312.89), Trastorno de oposición desafiante (313.81) y Trastorno de conducta alterada sin especificar; y Trastornos de tics tales como Trastorno de Tourette (307.23).

Trastornos de la personalidad que incluyen los subtipos Trastorno de personalidad paranoide (301.0), Trastorno de personalidad esquizoide (301.20), Trastorno de personalidad esquizotípico (301.22), Trastorno de personalidad antisocial (301.7), Trastorno de personalidad límite (301.83), Trastorno de personalidad histriónica (301.50), Trastorno de personalidad narcisista (301.81), Trastorno de personalidad de evitación (301.82), Trastorno de personalidad dependiente (301.6), Trastorno de personalidad obsesiva-compulsiva (301.4) y Trastorno de personalidad sin especificar (301.9).

Potenciación de la cognición que incluye el tratamiento de deterioro cognitivo en otras enfermedades tales como esquizofrenia, trastorno bipolar, depresión, otros trastornos psiquiátricos y afecciones psicóticas asociadas al deterioro cognitivo, por ejemplo enfermedad de Alzheimer: y

Disfunciones sexuales que incluyen Trastornos del deseo sexual tales como Trastorno del deseo sexual hipoactivo (302.71), y Trastorno de aversión sexual (302.79); trastornos de la excitación sexual tales como Trastorno de excitación sexual femenina (302.72) y Trastorno eréctil masculino (302.72); trastornos orgásmicos tales como Trastorno orgásmico femenino (302.73), Trastorno orgásmico masculino (302.74) y Eyaculación prematura (302.75); trastorno de dolor sexual tal como Dispareunia (302.76) y Vaginismo (306.51); Disfunción

- 5 sexual sin especificar (302.70); parafilias tales como Exhibicionismo (302.4), Fetichismo (302.81), Froteurismo (302.89), Pedofilia (302.2), Masoquismo sexual (302.83), Sadismo sexual (302.84), Fetichismo de travestista (302.3), Voyeurismo (302.82) y Parafilia sin especificar (302.9); trastornos de identidad sexual tales como Trastorno de la identidad sexual en los niños (302.6) y Trastorno de identidad sexual en adolescentes o adultos (302.85); y Trastorno sexual sin especificar (302.9).
- Todas las diversas formas y subformas de los trastornos mencionados en la presente memoria se contemplan como parte de la presente invención.
- 10 Así la invención también proporciona un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para usar como sustancia terapéutica en el tratamiento o profilaxis de los trastornos psicóticos anteriores, en particular esquizofrenia.
- La invención además proporciona un procedimiento para tratar esquizofrenia que comprende administrar a un huésped que lo necesite una cantidad eficaz de un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
- 15 En otro aspecto, la invención proporciona el uso de un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en la fabricación de un medicamento para usar en el tratamiento de esquizofrenia.
- La invención además proporciona un procedimiento de tratamiento o profilaxis de los trastornos anteriores, en mamíferos que incluyen seres humanos, que comprende administrar a quien los padece una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
- 20 En otro aspecto, la invención proporciona el uso de un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en la fabricación de un medicamento para usar en el tratamiento de los trastornos anteriores.
- Cuando se usan en terapia, los compuestos de la fórmula (I) habitualmente están formulados en forma de una composición farmacéutica convencional. Tales composiciones pueden prepararse usando procedimientos estándar.
- 25 Así, la presente invención además proporciona una composición farmacéutica para usar en el tratamiento de los trastornos anteriores que comprende el compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
- La presente invención además proporciona una composición farmacéutica que comprende el compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
- 30 Los compuestos de la invención pueden usarse combinados con los siguientes agentes para tratar o prevenir trastornos psicóticos: i) antipsicóticos; ii) fármacos para los efectos secundarios extrapiramidales, por ejemplo anticolinérgicos (tales como benzotropina, biperiden, prociclidina y trihexifenidilo), antihistaminas (tales como difenohidramina) y dopaminérgicos (tales como amantadina); iii) antidepresivos; iv) ansiolíticos; y v) potenciadores de la cognición por ejemplo inhibidores de la colinesterasa (tales como tacrina, donepezilo, rivastigmina y galantamina).
- 35 Los compuestos de la invención pueden usarse combinados con antidepresivos para tratar o prevenir depresión y trastornos del estado de ánimo.
- Los compuestos de la invención pueden usarse combinados con los siguientes agentes para tratar o prevenir enfermedad bipolar: i) estabilizantes del estado de ánimo; ii) antipsicóticos; y iii) antidepresivos.
- 40 Los compuestos de la invención pueden usarse combinados con los siguientes agentes para tratar o prevenir trastornos de ansiedad: i) ansiolíticos; y ii) antidepresivos.
- Los compuestos de la invención pueden usarse combinados con los siguientes agentes para mejorar la abstinencia de la nicotina y reducir la ansiedad por la nicotina: i) tratamiento de sustitución de nicotina por ejemplo una formulación sublingual de nicotina beta-ciclodextrina y parches de nicotina; y ii) bupropión.
- 45 Los compuestos de la invención pueden usarse combinados con los siguientes agentes para mejorar la abstinencia del alcohol y reducir la ansiedad por el alcohol: i) antagonistas de los receptores NMDA por ejemplo acamprosato; ii) agonistas de los receptores GABA por ejemplo tetrabamato; y iii) antagonistas de los receptores opioides por ejemplo naltrexona.
- 50 Los compuestos de la invención pueden usarse combinados con los siguientes agentes para mejorar la abstinencia de opiáceos y reducir la ansiedad por los opiáceos: i) agonista del receptor opioide mu/antagonista del receptor opioide kappa por ejemplo buprenorfina; ii) antagonistas de los receptores opioides por ejemplo naltrexona; y iii) antihipertensores vasodilatadores por ejemplo lofexidina.

5 Los compuestos de la invención pueden usarse combinados con los siguientes agentes para tratar o prevenir trastornos del sueño: i) benzodiazepinas por ejemplo temazepam, lormetazepam, estazolam y triazolam; ii) hipnóticos no benzodiazepínicos por ejemplo zolpidem, zopiclona, zaleplon e indiplon; iii) barbituratos por ejemplo aprobarbital, butabarbital, pentobarbital, secobarbital y fenobarbital; iv) antidepresivos; v) otros sedantes-hipnóticos por ejemplo hidrato de cloral y clormetiazol.

Los compuestos de la invención pueden usarse combinados con los siguientes agentes para tratar la anorexia: i) estimulantes del apetito por ejemplo ciproheptidina; ii) antidepresivos; iii) antipsicóticos; iv) zinc; y v) agentes premenstruales por ejemplo piridoxina y progesteronas.

10 Los compuestos de la invención pueden usarse combinados con los siguientes agentes para tratar o prevenir bulimia: i) antidepresivos; ii) antagonistas de los receptores opioides; iii) antieméticos por ejemplo ondansetrón; iv) antagonistas de los receptores de testosterona por ejemplo flutamida; v) estabilizantes del estado de ánimo; vi) cinc; y vii) agentes premenstruales.

15 Los compuestos de la invención pueden usarse combinados con los siguientes agentes para tratar o prevenir autismo: i) antipsicóticos; ii) antidepresivos; iii) ansiolíticos; y iv) estimulantes por ejemplo metilfenidato, formulaciones de anfetamina y pemolina.

20 Los compuestos de la invención pueden usarse combinados con los siguientes agentes para tratar o prevenir ADHD: i) estimulantes por ejemplo metilfenidato, formulaciones de anfetamina y pemolina; y ii) no estimulantes por ejemplo inhibidores de la recaptación de norepinefrina (tales como atomoxetina), agonistas de los adrenorreceptores alfa 2 (tales como clonidina), antidepresivos, modafinilo, e inhibidores de la colinesterasa (tales como galantamina y donezepilo).

Los compuestos de la invención pueden usarse combinados con los siguientes agentes para tratar trastornos de la personalidad: i) antipsicóticos; ii) antidepresivos; iii) estabilizantes del estado de ánimo; y iv) ansiolíticos.

25 Los compuestos de la invención pueden usarse combinados con los siguientes agentes para tratar o prevenir la disfunción sexual masculina: i) inhibidores de la fosfodiesterasa V, por ejemplo vardenafilo y sildenafil; ii) agonistas de dopamina/inhibidores del transporte de dopamina por ejemplo apomorfina y bupropión; iii) antagonistas del adrenorreceptor alfa por ejemplo fentolamina; iv) agonistas de las prostaglandinas por ejemplo alprostadilo; v) agonistas de la testosterona tales como testosterona; vi) inhibidores del transporte de serotonina por ejemplo inhibidores de la recaptación de serotonina; v) inhibidores del transporte de noradrenalina por ejemplo reboxetina y vii) agonistas de 5-HT_{1A}, por ejemplo flibanserina.

30 Los compuestos de la invención pueden usarse combinados con los mismos agentes que se especifican para la disfunción sexual masculina para tratar o prevenir la disfunción sexual femenina, y además un agonista de estrógenos tal como estradiol.

35 Fármacos antipsicóticos incluyen los antipsicóticos típicos (por ejemplo clorpromazina, tioridazina, mesoridazina, flufenazina, perfenazina, proclorperazina, trifluoperazina, tiotixina, haloperidol, molindona y loxapina); y antipsicóticos atípicos (por ejemplo clozapina, olanzapina, risperidona, quetiapina, aripirazol, ziprasidona y amisulprida).

40 Fármacos antidepresivos incluyen inhibidores de la recaptación de serotonina (tales como citalopram, escitalopram, fluoxetina, paroxetina y sertralina); inhibidores duales de la recaptación de serotonina y noradrenalina (tales como venlafaxina, duloxetina y milnacipran); inhibidores de la recaptación de noradrenalina (tales como reboxetina); antidepresivos tricíclicos (tales como amitriptilina, clomipramina, imipramina, maprotilina, nortriptilina y trimipramina); inhibidores de monoamina oxidasa (tales como isocarboxazida, moclobemida, fenzelina y tranilcipromina); y otros (tales como bupropión, mianserina, mirtazapina, nefazodona y trazodona).

45 Fármacos estabilizantes del estado de ánimo incluyen litio, valproato sódico/ácido valproico/divalproex, carbamazepina, lamotrigina, gabapentina, topiramato y tiagabina.

Ansiolíticos incluyen benzodiazepinas tales como alprazolam y lorazepam.

La invención así proporciona, en un aspecto adicional, una combinación que comprende un compuesto de la fórmula (I) o un derivado farmacéuticamente aceptable del mismo junto con otro u otros agentes terapéuticos adicionales.

50 Las combinaciones a las que se hace referencia anteriormente pueden presentarse de forma conveniente para usar en forma de una formulación farmacéutica y así las formulaciones farmacéuticas que comprenden una combinación tal como se define anteriormente junto con un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable comprenden un aspecto adicional de la invención. Los componentes individuales de tales combinaciones pueden administrarse bien de forma secuencial o simultánea en formulaciones farmacéuticas separadas o combinadas.

55

Cuando un compuesto de la fórmula (I) o un derivado farmacéuticamente aceptable del mismo se usa combinado con un segundo agente terapéutico activo contra el mismo estado de enfermedad, la dosis de cada compuesto puede ser diferente que cuando el compuesto se usa solo. Las dosis apropiadas serán apreciadas fácilmente por los expertos en la técnica.

5 Una composición farmacéutica de la invención, que puede prepararse mezclando adecuadamente, a temperatura ambiente y presión atmosférica, usualmente está adaptada a la administración oral, parenteral o rectal y, como tal, puede estar en forma de comprimidos, cápsulas, preparaciones líquidas orales, polvos granúlos, grageas, polvos reconstituibles, soluciones o suspensiones inyectables o infundibles o supositorios. Generalmente se prefieren las composiciones administrables por vía oral.

10 Los comprimidos y las cápsulas para la administración oral pueden estar en forma monodosis y pueden contener excipientes convencionales, tales como agentes aglutinantes, cargas, lubricantes para la formación de comprimidos, disgregantes y agentes humectantes aceptables. Los comprimidos pueden estar recubiertos de acuerdo con procedimientos notorios en la práctica farmacéutica normal.

15 Las preparaciones líquidas orales pueden estar en forma, por ejemplo, de suspensión acuosa u oleosa, soluciones, emulsiones, jarabes o elixires o pueden estar en forma de un producto seco para su reconstitución con agua u otro vehículo adecuado antes de su uso. Tales preparaciones líquidas pueden contener aditivos convencionales tales como agentes de suspensión, agentes emulsionantes, vehículos no acuosos (que pueden incluir aceites comestibles), conservantes y, si se desea, aromas o colorantes convencionales.

20 Para la administración parenteral, se preparan formas de dosificación unitaria fluidas utilizando un compuesto de la invención o sal farmacéuticamente aceptable del mismo y un vehículo estéril. El compuesto, dependiendo del vehículo y de la concentración que se use, puede o bien suspenderse o disolverse en el vehículo. En la preparación de las soluciones, el compuesto puede disolverse para ser inyectado y esterilizarse por filtración antes de introducirlo en un vial o ampolla adecuado y sellar. De forma ventajosa, en el vehículo se disuelven adyuvantes, tales como un anestésico local, conservantes y agentes tamponadores. Para mejorar la estabilidad, la composición puede congelarse después de llenar el vial y el agua eliminarse a vacío. Las suspensiones parenterales se preparan sustancialmente del mismo modo, pero el compuesto se suspende en el vehículo en lugar de disolverse, y la esterilización no puede lograrse por filtración. El compuesto puede esterilizarse mediante exposición a óxido de etileno antes de suspenderlo en un vehículo estéril. De forma ventajosa, en la composición se incluye un tensioactivo o agente humectante para facilitar la distribución uniforme del compuesto.

30 Las composiciones adecuadas para la administración transdérmica incluyen ungüentos, geles y parches.

35 La composición puede contener de 0,1% a 99% en peso, preferiblemente de 10 a 60% en peso, del material activo, dependiendo del procedimiento de administración. La dosis del compuesto que se usa en el tratamiento de los trastornos mencionados anteriormente variará de la forma habitual dependiendo de la gravedad de los trastornos, el peso del que los padezca y otros factores similares. Sin embargo, como guía general, las monodosis adecuadas pueden ser de 0,05 a 1000 mg, más adecuadamente de 1,0 a 200 mg, y tales monodosis pueden administrarse más de una vez al día, por ejemplo dos o tres al día. Tal tratamiento puede prolongarse durante un número de semanas o meses.

Sección experimental

40 Las siguientes descripciones y ejemplos ilustran la preparación de compuestos de la invención.

45 Los espectros de Resonancia magnética nuclear de protón (RMN) se registraron en aparatos Varian a 300, 400 o 500 MHz, en un aparato Bruker a 300 MHz, los desplazamientos químicos se expresan en ppm (δ) usando la línea del disolvente residual como patrón interno. Los patrones de desdoblamiento se denominan s, singlete; d, doblete; t, triplete; q, cuartete; m, multiplete; b,y br. ancho. Los espectros de la RMN se registraron a una temperatura que variaba en el intervalo de 25 a 90 °C; cuando se detectaba más de un conformero, los desplazamientos químicos que se reseñan son los del más abundante. Los espectros de masas (EM) se obtuvieron en un espectrómetro de masas 4 II triple cuádrupolo (Micromass Reino Unido) o en un espectrómetro de masas Agilent MSD 1100, ajustado en modo de ionización ES (+) y ES (-) o en un espectrómetro de masas Agilent CL/MSD 1100, ajustado en modo de ionización ES (+) y ES (-) acoplado a un aparato de HPLC Agilent 1100 Series. El análisis de [CL/EM - ES (+): se realizó en un aparato Supelcosil ABZ +Plus (33 x 4,6 mm, 3 μ m) (fase móvil: 100% de [agua + HCO₂H al 0,1%] durante 1 minuto, después desde 100% de [agua + HCO₂H al 0,1%] hasta 5% de [agua + HCO₂H al 0,1%] y [CH₃CN] al 95% en 5 minutos, finalmente en estas condiciones durante 2 minutos; T = 40 °C; caudal = 1 ml/minuto; el análisis de CL/EM - ES (-): se realizó en un aparato Supelcosil ABZ + Plus (33 x 4,6 mm, 3 μ m) (fase móvil: 100% de [agua + NH₃ al 0,05%] durante 1 minuto, después desde 100% de [agua + NH₃ al 0,05%] hasta 5% de [agua + NH₃ al 0,05%] y 95% de [CH₃CN] en 5 minutos, finalmente en estas condiciones durante 2 minutos; T = 40 °C; caudal = 1 ml/minuto]. En los espectros de masas sólo se refleja un pico del agrupamiento iónico molecular. Las rotaciones ópticas se determinaron a 20 °C con un aparato Jasco DIP360 (l = 10 cm, volumen de la cubeta = 1 ml, λ = 589 nm) a no ser que se

indique lo contrario. La cromatografía ultrarrápida en gel de sílice se realizó con gel de sílice de 230-400 de malla proporcionado por Merck AG Darmstadt, Alemania o con cartuchos previamente empaquetados Varian Mega de Be-Si o con cartuchos previamente empaquetados Biotage de sílice.

- 5 HPLC (walk-up) se refiere a análisis por HPLC realizado en una columna Luna C18 (fase móvil: de 100% de [agua + TFA al 0,05%] a 5% de [agua + TFA al 0,05%] y 95% de [CH₃CN + TFA al 0,05%] en 8 minutos; T = 40 °C; caudal = 1 ml/minuto).

UPLC se refiere al análisis por UPLC realizado en un UPLC Waters Acquity System. UPLC/EM se refiere al análisis por UPLC realizado en un UPLC Waters Acquity System acoplado a un Detector de EM Waters ZQ (cuad. único), intervalo de em 100-1000. Datos de la fase móvil de la UPLC:

- 10 Gradiente antes del organizador de muestras

A = H₂O + ácido fórmico al 0,1%
B = MeCN + ácido fórmico al 0,075%

	Tiempo (minutos)	Caudal (ml/minuto)	%A	%B	curva
15	1. Inicial	1,000	97,0	3,0	inicial
	2. 0,10	1,000	94,0	6,0	6
	3. 0,60	1,000	30,0	70,0	6
	4. 1,10	1,000	1,0	99,0	6
	5. 1,45	1,000	97,0	3,0	11

- 20 Gradiente después del organizador de muestras (ajustado para que proporcionara los mismos tiempos de retención que los que se lograron antes de la instalación del organizador de muestras)

	Tiempo (minutos)	Caudal	%A	%B	Curva
25	1. Inicial	1,000	97,0	3,0	Inicial
	2. 0,05	1,000	94,0	6,0	6
	3. 0,57	1,000	30,0	70,0	6
	4. 1,06	1,000	1,0	99,0	6
	5. 1,45	1,000	97,0	3,0	11

- 30 curva 6 = gradiente lineal
curva 11 = cambio al final

Waters Acquity 2996 PDA

35	Longitud de onda inicial (nm)	210,00
	Longitud de onda final (nm)	350,00
	Resolución (nm)	2,4
	Velocidad de muestreo (espectro/s)	20,000
	Respuesta del filtro	0
	Tiempo de exposición (ms)	Automático
	Interpolar 656	Si
	Tiempo de detención de la adquisición (minutos)	1,50

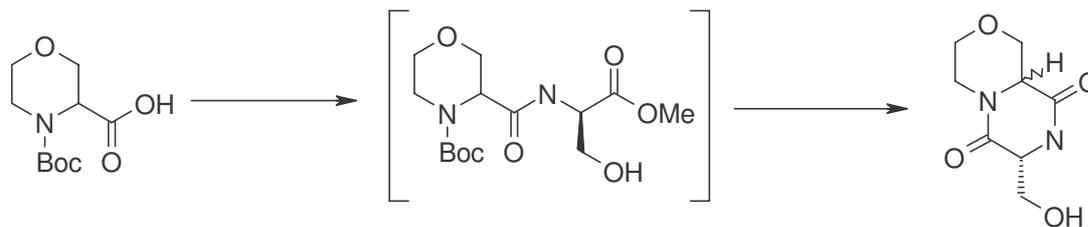
- 40 TLC se refiere a cromatografía en capa fina sobre placas de 0,25 mm de gel de sílice (60F-254 Merck) y visualizadas con luz UV. Para las separaciones de fases que se realizan usando dispositivos de microfiltración: cartucho de separación de fases con frita de polipropileno de Whatman o Alltech. SCX quiere decir: cartucho de SCX (que carga 0,75 mmol/g) de Varian.

Las soluciones se secaron sobre sulfato sódico anhidro.

- 45 En el texto se usan las siguientes abreviaturas: DCM = cloruro de metileno, Et₂O = éter dietílico, EtOH = etanol, MeOH = metanol, THF = tetrahidrofurano, TFA = ácido trifluoroacético, CH₃CN = acetonitrilo, std = saturado.

Descripción 1

(7R,9aR)-7-(Hidroximetil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-6,9-diona y (7R,9aS)-7-(hidroximetil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-6,9-diona (D1)



5 Ácido N-Boc-morfolin-2-carboxílico (Astatech, 1,34 g, 5,80 mmol) se suspendió en 15 ml de diclorometano anhidro, y se trató con tetrafluoroborato de *O*-benzotriazol-1-il-*N,N,N',N'*-tetrametiluronio (TBTU) (2,4 g, 7,47 mmol) y diisopropiletilamina (2 ml, 11,47 mmol). La reacción se agitó durante 40 minutos. Se preparó una solución de clorhidrato de éster metílico de D-serina (1,8 g, 11,57 mmol) y diisopropiletilamina (2 ml, 11,47 mmol) en diclorometano (15 ml) y se añadió a la mezcla de reacción. La reacción se dejó agitando a temperatura ambiente toda la noche. El análisis por UPLC-EM mostró la conversión en el producto. La reacción se diluyó con diclorometano (40 ml) y se extrajo con NaHCO₃ saturado (2 x 40 ml), se secó (Na₂SO₄), y el disolvente se eliminó. El producto en bruto se llevó a la siguiente etapa sin purificación adicional.

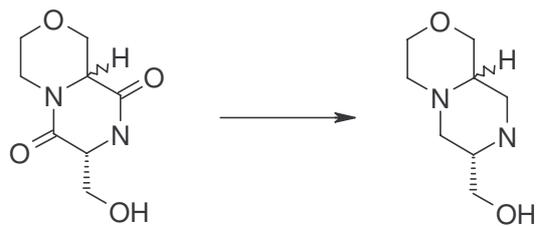
10 Se disolvió en 20 ml de diclorometano y se trató con 10 ml de TFA. La reacción se agitó a temperatura ambiente y se comprobó por UPLC-EM después de 4 horas lo que mostró la desaparición del pico del material inicial, que fue sustituido por uno nuevo para la especie desprotegida (*m/z* = 233, *M*+1). La mezcla de reacción se cargó tal cual en un cartucho de SCX, se lavó con MeOH (4 volúmenes de columna) y se eluyó con amoníaco metanólico 0,5 M. Las fracciones básicas, positivas para ninhidrina se recolectaron y el disolvente se eliminó. El residuo se disolvió en 10 ml de MeOH y se agitó a 50 °C en atmósfera de N₂ toda la noche (16 horas). La reacción se enfrió y se formó un precipitado, que se recolectó por filtración proporcionando 370 mg del compuesto del título. EM directa: *m/z* = 223 (*M*+Na).

RMN de ¹H: consistente con la estructura. Relación aprox. de 60:40 entre los diastereoisómeros:

20 RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 8,17 - 8,26 (s, 0,4 H) 8,09 - 8,17 (s, 0,6 H) 5,17 - 5,25 (m, 0,4 H) 5,09 - 5,17 (m, 0,6 H) 3,95 - 4,29 (m, 3 H) 3,60 - 3,91 (m, 3 H) 3,33 - 3,55 (m, 2 H) 2,61 - 2,90 (m, 0,6 H) 1,03 - 1,15 (t, 0,4 H).

Descripción 2

(7*S*,9*aR*)-Octahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-7-ilmetanol y (7*S*,9*aS*)-octahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-7-ilmetanol (D2)



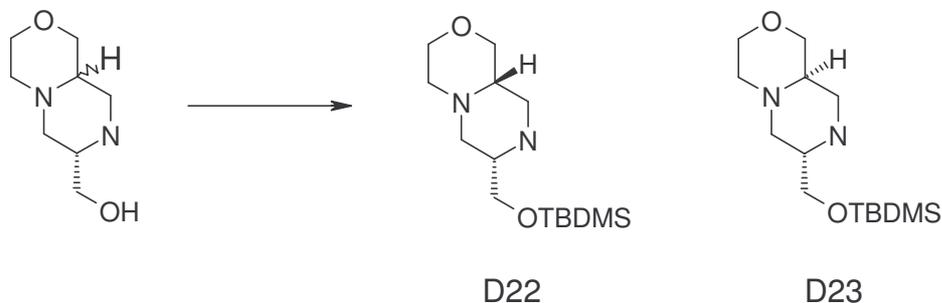
25 (7*R*,9*aR*)-7-(Hidroximetil)hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-6,9-diona y (7*R*,9*aS*)-7-(hidroximetil)hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-6,9-diona (D1) (365 mg, 1,82 mmol) se trataron con 20 ml de solución 1 M de BH₃-THF a temperatura ambiente. La suspensión se sometió a reflujo durante 17 horas y se comprobó por EM directa, que mostró la conversión completa en el producto. Se enfrió a 0 °C, y se añadieron 2 ml de MeOH lentamente, seguidos de 1 ml de HCl concentrado (a pH <1). La solución se calentó a 70 °C, se agitó durante 2 horas y se comprobó por EM directa. La solución se llevó a temperatura ambiente, el disolvente se eliminó y el residuo se disolvió en MeOH (se añadieron unas pocas gotas de agua), se cargó en un cartucho de SCX, se lavó con MeOH (5 volúmenes de columna) y se eluyó con amoníaco metanólico 2 M. Las fracciones positivas para ninhidrina se recolectaron y el disolvente se eliminó, dejando el producto del título en forma de un aceite transparente. 320 mg. EM directa: *m/z* = 173 (*M*+1).

35 RMN de ¹H consistente con la estructura, parece ser una mezcla de diastereoisómeros en una relación aprox. de 60:40:

40 RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 4,50 - 4,59 (m, 0,4 H) 4,38 - 4,48 (m, 0,6 H) 2,96 - 3,74 (m, 6 H) 2,57 - 2,78 (m, 2 H) 2,34 - 2,41 (m, 2 H) 1,86 - 2,28 (m, 4 H) 1,69 (t, 1 H).

40 Descripción 3 y Descripción 4

(7S,9aS)-7-(((1,1-Dimetiletil)(dimetil)silil]oxi)metil)octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazina (D3) y
(7S,9aR)-7-(((1,1-dimetiletil)(dimetil)silil]oxi)metil)octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazina (D4)



5 (7S,9aR)-Octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-7-ilmetanol y (7S,9aS)-octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-7-ilmetanol (D2) (315 mg, 1,83 mmol) se disolvió en 10 ml de diclorometano anhidro y se trató con Et₃N (600 µl, 4,30 mmol) y TDBMSCl (590 mg, 3,91 mmol). La reacción se agitó toda la noche a temperatura ambiente (17 horas). Se diluyó con diclorometano (30 ml) y se extrajo con NaHCO₃ saturado (2 x 20ml). El análisis por TLC (EtOAc: MeOH 95:5) mostró 2 productos principales. Los componentes orgánicos se secaron y el disolvente se eliminó dejando un aceite, que se purificó por cromatografía ultrarrápida (sílice, EtOAc→EtOAc:MeOH 90:10). Se aislaron dos productos:

(7S,9aS)-7-(((1,1-Dimetiletil)(dimetil)silil]oxi)metil)octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazina (D3), 253 mg. EM directa: m/z = 287 (M+1).

15 RMN de ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 3,72 - 3,79 (m, 1 H) 3,62 - 3,71 (m, 2 H) 3,37 - 3,56 (m, 2 H) 2,99 (t, 1 H) 2,65 - 2,78 (m, 1 H) 2,55 - 2,64 (m, 1 H) 2,25 - 2,44 (m, 3 H) 2,02 - 2,16 (m, 2 H) 1,90 - 2,02 (m, 1 H) 0,75 - 0,90 (s, 9 H) -0,05 - 0,05 (s, 6 H).

Identificado como el isómero *cis* basándose en los picos cruzados de ROESY.

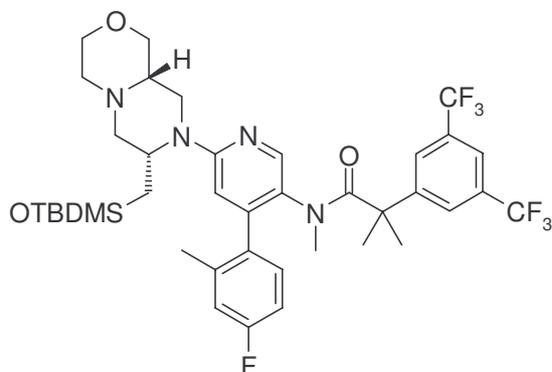
(7S,9aR)-7-(((1,1-Dimetiletil)(dimetil)silil]oxi)metil)octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazina (D4), 202 mg. EM directa: m/z = 287 (M+1).

20 RMN de ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 3,68 (d, 1 H) 3,56 (d, 1 H) 3,47 (t, 1 H) 3,36 - 3,43 (m, 2 H) 3,02 (t, 1 H) 2,68 - 2,76 (m, 1 H) 2,62 - 2,68 (m, 2 H) 2,50 - 2,56 (m, 1 H) 2,22 (t, 1 H) 2,11 - 2,18 (m, 1 H) 1,90 - 1,97 (m, 1 H) 1,70 (t, 1 H) 0,84 (s, 9 H) 0,02 (s, 6 H).

Identificado como el isómero *trans* basándose en los picos cruzados de ROESY.

Descripción 5

25 2-[3,5-Bis(trifluorometil)fenil]-N-[6-((7S,9aS)-7-(((1,1-dimetiletil)(dimetil)silil]oxi)metil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-4-(4-fluoro-2-metilfenil)-3-piridinil]-N,2-dimetilpropanamida (D5)



Procedimiento a):

30 (7S,9aS)-7-(((1,1-Dimetiletil)(dimetil)silil]oxi)metil)octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazina (D22) (250 mg, 0,872 mmol) se disolvió en 3,8 ml de tolueno. A esta solución se añadió 2-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]-N-[6-cloro-4-(4-fluoro-2-metilfenil)-3-piridinil]-N,2-dimetilpropanamida [documento WO 2005/002577] (460 mg, 0,863 mmol),

5 seguido de bis-tri-terc-butilfosfina paladio (110 mg, 0,215 mmol), cloruro de hexadeciltrimetilamonio (45 µl de una solución acuosa al 25%) y solución de hidróxido sódico (85 µl de una solución acuosa al 50%, 0,85 mmol). La solución se desgasificó mediante 3 ciclos de congelación, bombeo y descongelación, después se agitó a 90 °C. Después de 4 horas, el análisis por UPLC/EM indicó la conversión en el compuesto diana y ninguna traza de la cloropiridina inicial. La reacción se llevó a temperatura ambiente, se diluyó con EtOAc (20 ml) y se lavó con NaHCO₃ saturado (10 ml). Los componentes orgánicos se secaron y el disolvente se evaporó. El producto se aisló por cromatografía ultrarrápida (ciclohexano -> ciclohexano:EtOAc 85:15) en forma de un sólido blanco: 390 mg (0,498 mmol, 57%) que se llevó a la siguiente etapa sin caracterización adicional.

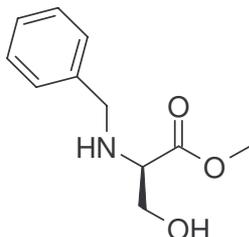
Procedimiento b):

10 A una solución en agitación de (7*S*,9*aS*)-7-(((1,1-dimetiletil)(dimetil)silil)oxi)metil)octahidropirazino[2,1-
c][1,4]oxazina (D107, 5 g, 17,45 mmoles) en 150 ml de tolueno seco a temperatura ambiente en atmósfera de
nitrógeno, se añadió una solución de 2-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]-*N*-[6-cloro-4-(4-fluoro-2-metilfenil)-3-piridinil]-
15 *N*,2-dimetilpropanamida (7,75 g, 14,54 mmoles) en 50 ml de tolueno seco, seguido de terc-butóxido sódico (2,1
g, 21,81 mmoles) y bis(tri-*terc*-butil fosfina)paladio (1,49 g, 2,908 mmoles). La mezcla resultante se calentó a
temperatura de reflujo durante 4 horas. La mezcla se dejó enfriar a temperatura ambiente y se filtró sobre
Sterimat. El filtrado después se diluyó con acetato de etilo (200 ml) y con hidrogenocarbonato sódico (solución
saturada, 200 ml). Se separaron las fases y la fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (2 x 150 ml). Los
extractos orgánicos combinados se secaron (Na₂SO₄) y se concentraron a vacío a un residuo, que se purificó
20 por cromatografía en gel de sílice eluyendo con EtOAc al 10 a 20%/ciclohexano proporcionando el compuesto
del título en forma de espuma amarillo claro (10,1 g).

UPLC/EM: pico en Tr = 1,26 minutos con m/z = 783,35 [M+H]⁺

HPLC (walk-up): Tr = 6,98 minutos (% de área = 98,22)

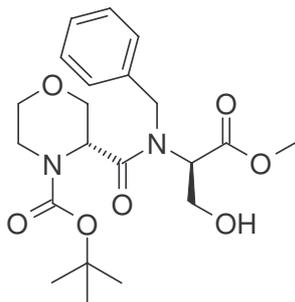
Descripción 6: *N*-(fenilmetil)-*D*-serinato metílico (D102)



25 El compuesto del título se preparó de acuerdo con la bibliografía (ref. *JOC*, **1990**, 55(1), 111-122) comenzando
a partir de clorhidrato de éster metílico de (*D*)-serina (98%, de Aldrich). Clorhidrato de éster metílico de (*D*)-
serina (10 g, 0,065 moles) se suspendió en 50 ml de metanol anhidro y se enfrió a 0 °C en atmósfera de
nitrógeno. Se añadió trietilamina (9 ml, 0,065 moles) gota a gota, seguida de benzaldehído (6,6 ml, 0,065
30 moles). La mezcla de reacción después se calentó y se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. Se
añadió borohidruro sódico (4,85 g, 0,13 moles) en porciones pequeñas durante 2 horas. La mezcla resultante
se agitó a temperatura ambiente toda la noche. La mezcla después se añadió lentamente a 50 ml de HCl
(solución al 20%) a 0 °C y la solución resultante se lavó con éter dietílico (50 ml). La fase acuosa después se
llevó a pH básico añadiendo carbonato potásico sólido y se extrajo con éter dietílico (3 x 50 ml). Los extractos
orgánicos combinados se secaron (Na₂SO₄) y se concentraron a vacío proporcionando el compuesto del título
35 en forma de aceite incoloro (10,95 g).

m/z = 210 [M+H]⁺.

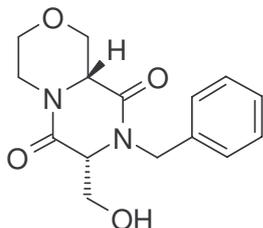
Descripción 7: (3*R*)-3-[[[(1*R*)-1-(hidroximetil)-2-(metiloxi)-2-oxoetil](fenilmetil)amino]carbonil]-4-morfolinocarboxilato 1,1-dimetiletilico (nombre no preferido) (D7)



5 A una suspensión en agitación de ácido (R)-4-Boc-morfolin-3-carboxílico (30 g, 0,13 moles, de J&W PharmLab) en 500 ml de DCM anhidro a temperatura ambiente en atmósfera de nitrógeno, se añadieron en porciones clorhidrato de N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilcarbodiimida (37,4 g, 0,195 moles) y 1-hidroxibenzotriazol hidratado (19,3 g, 0,143 moles). Al final de la adición, la suspensión se volvió una solución casi transparente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 45 minutos y después se añadieron N-(fenilmetil)-D-serinato metílico (D6, 28,6 g, 0,137 moles) y N,N-diisopropiletilamina (45,3 ml, 0,26 moles) en porciones pequeñas. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 26 horas y después se le añadió cloruro de amonio (solución saturada, 250 ml) y DCM (150 ml). Se separaron las fases y la fase acuosa se extrajo con DCM (3 x 150 ml) y EtAc (1 x 200 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera (2 x 500 ml), se secaron (Na₂SO₄), se concentraron a vacío y el residuo se purificó por cromatografía en gel de sílice eluyendo con EtOAc al 0 a 30%/ciclohexano proporcionando el compuesto del título en forma de aceite amarillo (38,7 g).

UPLC/EM: pico en Tr = 0,62 minutos con m/z = 423,1 [M+H]⁺.

Descripción 8: (7R,9aR)-7-(hidroximetil)-8-(fenilmetil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-6,9-diona (D8)

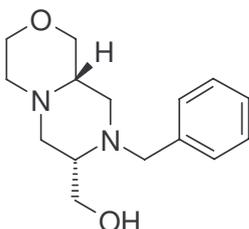


15 A una solución en agitación de (3R)-3-[[[(1R)-1-(hidroximetil)-2-(metiloxi)-2-oxoetil](fenilmetil)amino]carbonil]-4-morfolincarboxilato 1,1-dimetiletílico (D7, 38,7 g, 0,092 moles) en 400 ml de DCM a temperatura ambiente, se añadió lentamente ácido trifluoroacético (68,3 ml, 0,92 moles). La solución naranja resultante se agitó a temperatura ambiente toda la noche. Después se enfrió mediante un baño de agua y hielo y se llevó a pH = 7-8 añadiendo hidrogenocarbonato sódico (solución saturada, 250 ml y en forma de sólido). Se separaron las fases y la fase acuosa se extrajo con DCM (3 x 300 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron (Na₂SO₄), se concentraron a vacío proporcionando un residuo, que se disolvió en 270 ml de metanol y se calentó a 56-58 °C durante 2 horas. La mezcla después se dejó enfriar a temperatura ambiente y el disolvente se eliminó a vacío proporcionando un residuo sólido, que se trató con 100 ml de una mezcla ciclohexano/EtOAc 8/2. La suspensión resultante se agitó a temperatura ambiente durante 30-40 minutos y después el sólido se eliminó por filtración y se recolectó proporcionando el compuesto del título (18,7 g) en forma de sólido blanco.

UPLC/EM: pico en Tr = 0,49 minutos con m/z = 291,09 [M+H]⁺.

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 7,26 - 7,37 (m, 5 H) 5,41 (t, 1 H) 5,09 (d, 1 H) 4,31 (dd, 1 H) 4,23 (dd, 1 H) 4,01 - 4,07 (m, 2 H) 3,69 - 3,84 (m, 4 H) 3,59 (t, 1 H) 3,33 (td, 1 H) 2,85 (td, 1 H).

30 **Descripción 9: [(7S,9aS)-8-(fenilmetil)octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-7-il]metanol (D9)**

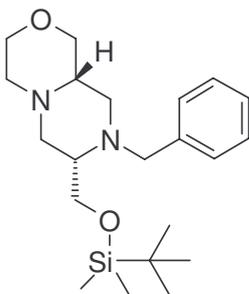


A una suspensión en agitación de (7*R*,9*aR*)-7-(hidroximetil)-8-(fenilmetil)hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-6,9-diona (D8, 18,7 g, 0,064 moles) en 190 ml de THF anhidro a 0 °C en atmósfera de nitrógeno, se añadió solución 1 M de complejo de borano y THF, en THF, (385 ml, 0,386 moles) durante 45 minutos manteniendo la temperatura interna por debajo de 10 °C. Al final de la adición la mezcla se volvió una solución incolora. La mezcla después se dejó calentar a temperatura ambiente y después se calentó a 70 °C durante 28 horas.

La mezcla después se dejó enfriar a temperatura ambiente y después a 0 °C mediante un baño de agua y hielo. Después lentamente se añadió metanol (47 ml, 1,15 moles) y HCl 6 M (32 ml, 0,128 moles), con precaución controlando el desprendimiento de gas. La mezcla resultante después se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó toda la noche. La mezcla después se calentó a 55 °C durante 8 horas y después se enfrió a temperatura ambiente. El precipitado blanco se eliminó por filtración y el filtrado se concentró a vacío proporcionando un residuo, que se disolvió en 50 ml de agua y 100 ml de DCM. El precipitado blanco que previamente se había eliminado por filtración se recolectó y se disolvió en 70 ml de agua y se añadió a la mezcla anterior. Se separaron las fases y la fase acuosa se extrajo con DCM (3 x 150 ml). La fase acuosa después se llevó a pH = 7 añadiendo 250 ml de NaOH 3 N y se extrajo de nuevo con DCM (3 x 100 ml) y acetato de etilo (3 x 200 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron (Na₂SO₄) y se concentraron a vacío proporcionando el compuesto del título en forma de espuma amarillo claro (16,9 g).

UPLC/EM: pico en Tr = 0,40 minutos con m/z = 263,13 [M+H]⁺

Descripción 10: (7*S*,9*aS*)-7-(((1,1-dimetiletil)(dimetil)silil)oxi)metil)-8-(fenilmetil)octahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazina (D10)



Procedimiento a):

A una solución en agitación de [(7*S*,9*aS*)-8-(fenilmetil)octahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-7-il]metanol (D9, 15,3 g, 0,058 moles) en 153 ml de DCM a temperatura ambiente, se añadieron imidazol (4,76 g, 0,070 moles) y cloruro de *tert*-butildimetilsililo (8,35 g, 0,055 moles). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Después se añadió imidazol (0,476 g, 5,8 mmoles) y cloruro de *tert*-butildimetilsililo (8,35 g, 0,055 moles) una segunda vez y la mezcla se agitó toda la noche. Después se añadieron imidazol (0,476 g, 0,006 moles) y cloruro de *tert*-butildimetilsililo (5,27 g, 0,035 moles) una tercera vez y la mezcla se agitó durante 4 horas más. Se añadió DCM (153 ml) y después se añadieron imidazol (2,4, 0,035 moles) y cloruro de *tert*-butildimetilsililo (5,27 g, 0,035 moles) una cuarta vez. La mezcla se agitó toda la noche. Después se añadieron agua (150 ml) e hidrogenocarbonato sódico (solución saturada, 150 ml) y se separaron las fases. La fase acuosa se extrajo con DCM (150 ml) y los extractos orgánicos combinados se secaron (Na₂SO₄) y se concentraron a vacío a un residuo, que se purificó por cromatografía en gel de sílice eluyendo con EtOAc al 5-10%/ciclohexano proporcionando el compuesto del título en forma de un aceite (22,2 g).

RMN de ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 7,32 - 7,36 (m, 4 H) 7,24 - 7,29 (m, 1 H) 4,00 (t, 1 H) 3,90 (dd, 1 H) 3,88 (d, 1 H) 3,77 (dd, 1 H) 3,70 (d, 1 H) 3,52 - 3,58 (m, 1 H) 3,48 - 3,56 (m, 1 H) 3,07 (t, 1 H) 2,75 - 2,83 (m, 2 H) 2,25 - 2,37 (m, 4 H) 2,12 - 2,23 (m, 2 H) 0,90 (s, 9 H) 0,08 (s, 3 H) 0,06 (s, 3 H).

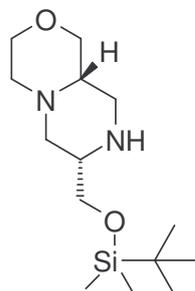
HPLC (walk-up): Tr = 4,826 minutos (% de área = 98,69).

Procedimiento b):

A una solución en agitación de [(7*S*,9*aS*)-8-(fenilmetil)octahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-7-il]metanol (D9, 29,8 g, 0,114 moles) en 447 ml de DCM a temperatura ambiente, se añadieron imidazol (9,27 g, 0,136 moles) y cloruro de *tert*-butildimetilsililo (42,7 g, 0,284 moles). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente toda la noche. Después se añadieron agua (300 ml), hidrogenocarbonato sódico (solución saturada, 300 ml) y DCM (150 ml) y se separaron las fases. La fase acuosa se extrajo con DCM (300 ml) y los extractos orgánicos combinados se secaron (Na₂SO₄) y se concentraron a vacío a un residuo, que se purificó por cromatografía en gel de sílice eluyendo con EtOAc al 5-10%/ciclohexano proporcionando el compuesto del título en forma de aceite amarillo claro (50,95 g).

HPLC (walk-up): Tr = 4,865 minutos (% de área = 99,55).

Descripción 11: (7S,9aS)-7-(((1,1-dimetiletil)(dimetil)silil]oxi)metil)octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazina (D11)



5 A una solución en agitación de (7S,9aS)-7-(((1,1-dimetiletil)(dimetil)silil]oxi)metil)-8-(fenilmetil)-octahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazina (D10, 22,2 g, 0,059 moles) en 660 ml de metanol a temperatura ambiente en atmósfera de nitrógeno, se añadieron paladio sobre carbono (10% en peso, húmedo, 6,28 g, 0,006 moles) y formiato de amonio (37,2 g, 0,59 moles). La mezcla resultante se agitó a 80 °C durante 1-1,5 horas. La mezcla resultante después se dejó enfriar a temperatura ambiente y se filtró sobre Celite. El filtrado se concentró a vacío proporcionando el compuesto del título (16 g) en forma de aceite amarillo pálido.

10 UPLC/EM: pico no visible por UV. Masa m/z = 287,18 [M+H]⁺.

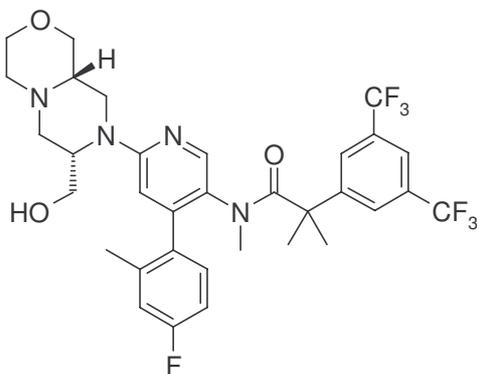
CASS ID 8341, RMN y CL/EM

RMN de ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 3,74 (t, 1 H) 3,62 - 3,70 (m, 2 H) 3,48 (dd, 1 H) 3,39 - 3,46 (m, 1 H) 2,98 (t, 1 H) 2,67 - 2,73 (m, 1 H) 2,60 (dd, 1 H) 2,40 (dd, 1 H) 2,26 - 2,37 (m, 2 H) 2,23 (br. s., 1 H) 2,12 (dd, 1 H) 2,04 - 2,10 (m, 1 H) 1,90 - 2,00 (m, 1 H) 0,81 (s, 9 H) -0,00 (s, 6 H).

15 Patrón de picos cruzados ROESY está de acuerdo con la estereoquímica relativa *sin*.

20 Ejemplo 1

2-[3,5-Bis(trifluorometil)fenil]-N-[4-(4-fluoro-2-metilfenil)-6-[(7S,9aS)-7-(hidroximetil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-3-piridinil]-N,2-dimetilpropanamida (E1)



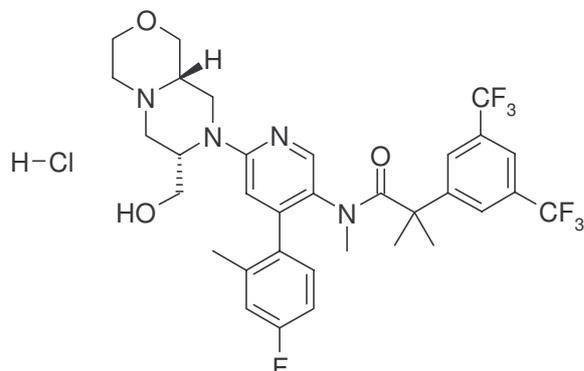
25 2-[3,5-Bis(trifluorometil)fenil]-N-[6-[(7S,9aS)-7-(((1,1-dimetiletil)(dimetil)silil]oxi)metil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-4-(4-fluoro-2-metilfenil)-3-piridinil]-N,2-dimetilpropanamida (D5) (390 mg, 0,498 mmol) se disolvió en 17 ml de metanol. A esta solución se añadió HCl concentrado (0,9 ml) a 0 °C, y se continuó agitando a temperatura ambiente durante 3 horas (conversión completa). La mezcla de reacción se cargó en un cartucho de SCX y se lavó con MeOH. El producto se hizo eluir con amoniaco metanólico 0,5 M. Las fracciones que contenían producto se evaporaron, dejando el compuesto diana en forma de un sólido blanco: 310 mg, 0,464 mmol, 93%.

30 UPLC/EM: m/z = 669 (M+1).

35 RMN de ¹H (DMSO-*d*₆): δ (ppm) 8,07-7,97 (s, 1H), 7,88-7,81 (s, 1H), 7,79-7,69 (br. s, 2H), 7,19-7,11 (d, 1H), 7,14-7,06 (br. s, 2H) 6,64-6,56 (s, 1H), 4,75-4,65 (m, 1H), 4,31-4,13 (br. S, 1H), 4,15-4,01 (br. s, 1H), 3,80-3,68 (m, 3H), 3,58-3,49 (t, 1H); 3,43-3,34 (m, 1H); 3,18-3,09 (t, 1H); 3,04-2,98 (d, 1H); 2,68-2,58 (d, 1H); 2,51-2,45 (s, 3H); 2,20-2,13 (s, 3H); 2,29-2,00 (m, 4H); 1,54-1,39 (s, 3H); 1,39-1,28 (s, 3H).

Ejemplo 2

Clorhidrato de 2-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]-N-{4-(4-fluoro-2-metilfenil)-6-[(7S,9aS)-7-(hidroximetil)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-3-piridinil}-N,2-dimetilpropanamida (E2)



5 A una solución de 2-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]-N-{4-(4-fluoro-2-metilfenil)-6-[(7S,9aS)-7-(hidroximetil)-hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-3-piridinil}-N,2-dimetilpropanamida (E1) (300 mg, 0,449 mmol) en 2 ml de éter dietílico se añadió 0,6 ml de una solución 1 M de HCl en éter dietílico. Se formó un precipitado blanco. El disolvente y el exceso de HCl se eliminaron en una corriente de nitrógeno y el residuo se trituró con 1 ml de pentano:Et₂O 1:1. El sólido blanco se recolectó por filtración y se dejó a vacío elevado proporcionando el compuesto del título 280 mg, 0,397 mmol, rendimiento del 88%.

10 RMN de ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 10,24 (br. s., 1 H) 8,03 (br. s., 1 H) 7,90 (br. s., 1 H) 7,55 - 7,82 (m, 2 H) 6,89 - 7,24 (m, 3 H) 6,77 (br. s., 1 H) 4,65 (br. s., 1 H) 4,45 (br. s., 1 H) 3,92 - 4,15 (m, 2 H) 3,76 - 3,90 (m, 2 H) 3,34 - 3,55 (m, 2 H) 3,09 - 3,36 (m, 2 H) 2,84 - 3,04 (m, 1 H) 2,49 - 2,62 (m, 2 H) 2,01 - 2,30 (m, 6 H) 1,10 - 1,58 (m, 8 H).

15 α_D (c = 0,5 en MeOH) = -39,6 obtenido usando un polarímetro polAAR 3000, λ = 589,4 nm, volumen de la cubeta = 1,3 ml, longitud del recorrido, l = 1 dm. (Este valor se determinó con una muestra diferente, espectroscópicamente igual a la que se describe anteriormente y preparada de forma análoga).

Datos biológicos

30 Los compuestos de la invención pueden analizarse para determinar la actividad biológica *in vitro* de acuerdo con los siguientes ensayos:

Medición de la afinidad de unión de NK

35 La afinidad de unión de NK de los compuestos de la invención se determinó usando el siguiente ensayo de centelleo de proximidad (SPA) (véanse H. M. Sarau y cols., J. Pharmacol. Experimental Therapeutics 1997, 281(3), 1303-1311; H. M. Sarau y cols., J. Pharmacol. Experimental Therapeutics 2000, 295(1), 373-381; G. A. M. Giardina y cols. J. Med. Chem 1999, 42, 1053-1065). Se usaron ¹²⁵I-Sustancia P, ¹²⁵I-NKA e ¹²⁵I-[MePhe7]-NKB en el SPA de unión del receptor NK1, NK2 y NK3, respectivamente. Perlas de WGA-SPA Leadseeker de poliestireno (Amersham Biosciences) se mezclaron con membrana plasmática preparada a partir de líneas celulares CHO que expresaban NK1, NK2 o NK3 con una relación entre perlas y membrana de 20:1 (p/p) en tampón de ensayo (Tris 75 mM a pH 7,8, NaCl 75 mM, MnCl₂ 4 mM, EDTA 1 mM, Chaps al 0,05%, PMSF 1 mM). La mezcla se introdujo en hielo durante 20 minutos permitiendo formación del complejo de membrana y perlas antes de añadir BSA a una concentración final de 1%. Después de otros 20 minutos de incubación sobre hielo, el complejo de membrana y perlas se lavó dos veces y se suspendió en tampón de ensayo. Después se añadieron ligandos marcados con ¹²⁵I al complejo de membrana y perlas. Después se dispensaron 10 µl de la mezcla resultante en cada pocillo de una placa Greiner de 384 pocillos de volumen reducido con 100 nl de compuesto previamente dispensado en DMSO al 100%. Las placas se sellaron después y se centrifugaron a impulsos a 1100 rpm. Después de 2-3 horas de incubación a temperatura ambiente agitando, las placas se centrifugaron durante 2 minutos a 1100 rpm y se midieron en un Viewlux imager (PerkinElmer) durante 5 minutos con un filtro de 618 nm. La inhibición de la unión del ligando radiactivo a su receptor respectivo se midió por la reducción de la señal. Se calculó la pK_i usando la K_d de cada ligando radiactivo que se determinó en un experimento diferente.

Medición de la afinidad funcional por NK:

Ensayo de movilización de calcio en (FLIPR): Receptores NK expresados en Bacman

55 Los compuestos de la invención se caracterizaron además con un ensayo funcional usando tecnología FLIPR para la determinación de su efecto inhibitor de la liberación de calcio intracelular inducida por la interacción de los receptores NK con sus ligandos respectivos. En los estudios se usaron células U2OS humanas

transducidas de forma transitoria con virus BacMan recombinantes que expresaban los receptores NK1, NK2 y NK3 (véase J. P. Condreay y cols., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1999, 96(1): 127-132). En resumen, se recolectaron células U2OS de matraces de cultivo tisular, se resuspendieron con una densidad de células de 200-300K/ml y se mezclaron con virus BacMan recombinantes que portaban el gen NKR con una relación entre virus y células de 1% (v/v). Después se sembraron 10K-15K células/pocillo en una placa Greiner bio-one de 384 pocillos en medio de cultivo (DMEM con FBS al 10%), se incubaron toda la noche en CO₂ a 37 °C. Después de aspirar el medio, las células se cargaron 18-24 horas después con un indicador de calcio citoplasmático Calcium 3 dye (Molecular Devices Co.) en tampón a 30 µl/pocillo (sales equilibradas de Hank con Hepes 20 mM) y se incubaron en CO₂ a 37 °C durante 60 minutos. Después se añadieron 10 µl/pocillo de tampón de ensayo (sales equilibradas de Hank con Hepes 20 mM) que contenía concentraciones diferentes de compuestos a las células para incubarse durante 30 minutos a 37 °C. Finalmente, se añadieron 10 µl/pocillo de ligandos de NKR en tampón de ensayo que contenía BSA al 0,1% a las células y la señal fluorescente se leyó con un sistema FLIPR. Se usaron los péptidos Sustancia P, NKA y NKB como ligandos para los receptores NK1, NK2 y NK3, respectivamente. Se determinaron los valores de CI₅₀ de cada compuesto mediante una curva de inhibición de 11 puntos y dilución de 3 veces. La potencia de cada antagonista (fpK_i) se calculó a partir de la pCI₅₀ mediante la ecuación de Cheng-Prusoff usando la CE₅₀ del ligando determinada en un experimento diferente.

Medición de la afinidad funcional por NK3

Ensayo de movilización de calcio en (FLIPR): receptores de NK expresados de forma estable

Receptores de neuroquinina 3 (NK₃) clonados humanos expresados de forma estable en células embrionarias humanas de riñón (HEK 293) se mantuvieron en Medio mínimo esencial (MEM, 31095-029 Invitrogen Life Technologies, Paisley, Reino Unido) suplementado con suero bovino fetal al 5%, L-glutamina al 1% y 400-500 µg de genitocina y se subcultivaron usando Accutase (PAA Labs, Austria). Las células se mantuvieron a 37 °C CO₂ al 5%/O₂ con una incubadora humidificada. Los cambios en el Ca²⁺ intracelular se determinaron usando un lector de placas de formación de imágenes fluorescentes Fluorescence Imaging Plate Reader (FLIPR) (Molecular Devices, Sunnyvale CA, EE. UU.) mediante un procedimiento similar al que describen Jerman y cols., (2001). Células HEK 293 que expresan el receptor NK₃ humano de forma estable se sembraron en placas de 96 pocillos revestidas de poli-d-lisina de base transparente y paredes negras (Costar, Reino Unido) a una densidad de 25.000 células por pocillo incubadas toda la noche. Las células se incubaron (37 °C durante 60 minutos) con Calcium Plus Reagent (Molecular Devices) en tampón Tyrodes (NaCl, 145 mM; KCl, 2,5 mM; HEPES, 10 mM; Glucosa, 10 mM; MgCl₂, 1,2 mM; CaCl₂, 1,5 mM) que contenía probenecid (2,5 mM), antes de incubarse (30 minutos a 37 °C) o con tampón o con antagonista (50 µl). Después las placas se introdujeron en el FLIPR y se añadieron 50 µl de NKB (concentración final de 10 pM - 1 µM) y se controlaron los cambios en la fluorescencia. Los cambios máximos en la fluorescencia se produjeron en los primeros 5 segundos y se expresaron tras restar el nivel inicial. Las curvas de respuesta en función de la concentración se analizaron usando una ecuación logística de 4 parámetros (GraphPad Prism, GraphPad Software Inc.) obteniendo los valores de pCE₅₀ (-log CE₅₀), los valores de pA₂ se obtuvieron mediante análisis de Schild. Los datos son la media ± d.t. de la media de tres experimentos diferentes.

Ensayo de acumulación de fosfatos de [³H]-inositol

La acumulación de fosfatos de [³H]-inositol se midió usando la metodología de Brandish y cols., (2003). En resumen, células de osteosarcoma humano (células U-2OS) se cultivaron en medio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) con suero de ternera fetal al 10%. Las células se mantuvieron a CO₂ al 5% /O₂ con una incubadora humidificada a 37 °C. Todos los reactivos de cultivo celular se obtuvieron de Invitrogen, Paisley, Reino Unido. Las células U-2OS se cultivaron hasta confluencia, se recolectaron, y se suspendieron en medio de crecimiento a una densidad de 250000 células por ml. Después se añadió virus Bacmam NK₃ humano a una concentración de 50 unidades formadoras de placas por célula. Se sembraron 25000 células por pocillo en placas de 96 pocillos de base transparente y paredes negras (Corning Costar, Reino Unido) y se incubaron toda la noche.

Tras la aspiración del medio de crecimiento, las células se lavaron con 2 x 200 µl de medio de ensayo sin inositol (IF), albúmina de suero bovino al 3%, L-Glutamina 2 µM. Las células se incubaron durante 16 horas con DMEM sin inositol en presencia de [³H]-mio-inositol 1 µCi por pocillo (Amersham Reino Unido).

Después se aspiró el medio de crecimiento y las células se lavaron con 2 x 200 µl de DMEM IF. Las células se preincubaron (30 minutos, 37 °C) en ausencia o presencia de los compuestos de ensayo antes de la adición de diversas concentraciones de NKB (0,1 nM – 10 mM) en presencia de LiCl (5 mM). Después de 30 minutos de incubación con el agonista, el ensayo se finalizó mediante la aspiración del medio de ensayo y la adición de 200 µl de ácido fórmico 0,1 M a las células. Después de una hora de incubación, se mezclaron alícuotas de 20 µl con 80 µl de perlas de silicato de itrio en pico- placas blancas sólidas (PerkinElmer). Las placas se agitaron suavemente durante 1 hora antes de dejar que la mezcla de perlas sedimentara durante 2 horas. Las placas se contaron en una TopCount (PerkinElmer). Los datos se presentan en términos de porcentaje de la respuesta máxima a NKB. Las curvas de respuesta en función de la concentración se analizaron usando una ecuación

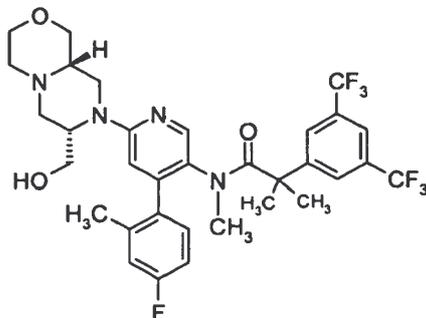
logística de 4 parámetros (GraphPad Prism, GraphPad Software Inc). Los valores de pA_2 se obtuvieron mediante análisis de Schild. Los datos son la media \pm d.t. de la media de tres experimentos diferentes.

Resultados

5 Los compuestos de los Ejemplos E1 y E2 se analizaron en el ensayo de afinidad de unión de NK1 y mostraron una afinidad de unión $> 8,5$ pK_i .

REIVINDICACIONES

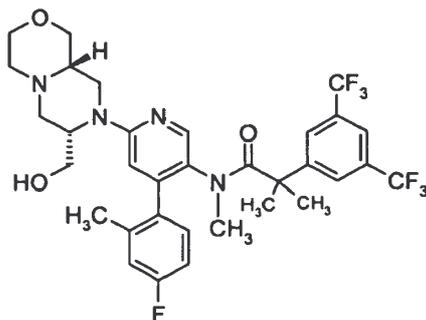
1. Un compuesto que es 2-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]-N-{4-(4-fluoro-2-metilfenil)-6-[(7S,9aS)-7-(hidroximetil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-3-piridinil}-N,2-dimetilpropanamida



(I)

5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

2. Un compuesto que es 2-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]-N-{4-(4-fluoro-2-metilfenil)-6-[(7S,9aS)-7-(hidroximetil)hexahidropirazino[2,1-c][1,4]oxazin-8(1H)-il]-3-piridinil}-N,2-dimetilpropanamida.



(I)

10 3. Un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo tal como se define en la reivindicación 1 o 2 para usar en terapia.

4. Un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo tal como se define en la reivindicación 1 o 2 para usar en el tratamiento de trastornos psicóticos.

5. Un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo tal como se define en la reivindicación 4, en donde el trastorno psicótico es esquizofrenia.

15 6. Un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo tal como se define en la reivindicación 1 o 2 para uso en el tratamiento de trastornos depresivos.

7. Un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo tal como se define en la reivindicación 1 o 2 para uso en el tratamiento de trastornos bipolares.

20 8. Un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo tal como se define en la reivindicación 1 o 2 para uso en el tratamiento de trastornos relacionados con el alcohol.

9. Un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo tal como se define en la reivindicación 8, donde el trastorno relacionado con el alcohol es la dependencia del alcohol.

10. El uso de un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2 en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de trastornos psicóticos.

25 11. El uso de un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo tal como se define en la reivindicación 10, en donde el trastorno psicótico es esquizofrenia.

- 12.** El uso de un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2 en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de trastornos depresivos.
- 13.** El uso de un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2 en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de trastornos bipolares.
- 5 **14.** El uso de un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2 en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de trastornos relacionados con el alcohol.
- 15.** El uso de un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo tal como se define en la reivindicación 14, donde el trastorno relacionado con el alcohol es la dependencia del alcohol.
- 10 **16.** Una composición farmacéutica que comprende un compuesto según la reivindicación 1 o 2 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
- 17.** Una composición farmacéutica para uso en el tratamiento de trastornos psicóticos que comprende un compuesto según la reivindicación 1 o 2 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
- 15 **18.** Una composición farmacéutica según la reivindicación 17, en donde el trastorno psicótico es esquizofrenia.
- 19.** Una composición farmacéutica para uso en el tratamiento de trastornos depresivos, que comprende un compuesto según la reivindicación 1 o 2 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
- 20 **20.** Una composición farmacéutica para uso en el tratamiento de trastornos bipolares, que comprende un compuesto según la reivindicación 1 o 2 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
- 21.** Una composición farmacéutica para uso en el tratamiento de trastornos relacionados con el alcohol, que comprende un compuesto según la reivindicación 1 o 2 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
- 25 **22.** Una composición farmacéutica según la reivindicación 21, en donde el trastorno relacionado con el alcohol es la dependencia del alcohol.