

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 369 944**

51 Int. Cl.:
C07D 413/14 (2006.01)
A61K 31/454 (2006.01)
A61P 3/04 (2006.01)
A61P 3/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **08702096 .2**
96 Fecha de presentación: **04.01.2008**
97 Número de publicación de la solicitud: **2114935**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **11.11.2009**

54 Título: **AGONISTAS DE GPCR PIPERIDÍNICOS.**

30 Prioridad:
04.01.2007 GB 0700125
08.05.2007 GB 0708746
10.10.2007 GB 0719763

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
09.12.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
09.12.2011

73 Titular/es:
PROSIDION LTD
WINDRUSH COURT WATLINGTON ROAD
OXFORD, OX4 6LT, GB

72 Inventor/es:
FYFE, Matthew, Colin, Thor;
JEEVARATNAM, Revathy, Perpetua;
KEILY, John;
SWAIN, Simon, Andrew y
BERTRAM, Lisa, Sarah

74 Agente: **Lehmann Novo, Isabel**

ES 2 369 944 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

Agonistas de GPCR piperidínicos

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

5 La presente invención se refiere a agonistas del receptor acoplado a proteína G (GPCR). En particular, la presente invención se refiere a agonistas de GPCR que son útiles para el tratamiento de obesidad, por ejemplo como reguladores de la saciedad, síndrome metabólico y para el tratamiento de diabetes.

10 La obesidad se caracteriza por una masa excesiva de tejido adiposo con relación al tamaño corporal. Clínicamente, la masa de grasa corporal se estima mediante el índice de masa corporal (IMB; peso (kg)/altura (m)²), o circunferencia de la cintura. Se considera que los individuos son obesos cuando el IMB es mayor que 30, y hay consecuencias médicas establecidas por el hecho de tener sobrepeso. Desde hace tiempo un punto de vista médico aceptado ha sido que un aumento del peso corporal, especialmente como resultado de grasa corporal abdominal, está asociado con un aumento del riesgo de diabetes, hipertensión, cardiopatía, y otras numerosas complicaciones de salud, tales como artritis, apoplejía, enfermedad vesicular, problemas musculares y respiratorios, lumbalgia, e incluso ciertos cánceres.

15 Los enfoques farmacológicos para el tratamiento de la obesidad han estado relacionados principalmente con la reducción de la masa de grasa alterando el balance entre la ingesta y el gasto de energía. Muchos estudios han establecido claramente la relación entre adiposidad y la circuitaría cerebral implicada en la regulación de la homeostasia energética. Signos directos e indirectos sugieren que las rutas serotoninérgicas, dopaminérgicas, adrenérgicas, colinérgicas, endocannabinoides, opioideas, e histaminérgicas, además de muchas rutas
20 neuropeptídicas (por ejemplo, neuropéptido Y y melanocortinas), están implicadas en el control central de la ingesta y gasto de energía. Los centros hipotalámicos también son capaces de percibir hormonas periféricas implicadas en el mantenimiento del peso corporal y grado de adiposidad, tales como insulina y leptina, y péptidos derivados del tejido graso.

25 Los fármacos dirigidos a la patofisiología asociada con diabetes Tipo I dependiente de insulina y diabetes Tipo II no dependiente de insulina tienen muchos efectos secundarios potenciales y no se dirigen adecuadamente a la dislipidemia e hiperglucemia en una proporción elevada de pacientes. El tratamiento está centrado a menudo en las necesidades individuales del paciente usando dieta, ejercicio, agentes hipoglucémicos e insulina, pero existe una necesidad continua de nuevos agentes antidiabéticos, particularmente aquellos que pueden ser tolerados mejor con menores efectos adversos.

30 De forma similar, el síndrome metabólico (síndrome X) pone a las personas en riesgo elevado de arteriopatía coronaria, y se caracteriza por un racimo de factores de riesgo, incluyendo obesidad central (tejido graso excesivo en la región abdominal), intolerancia a la glucosa, triglicéridos elevados y bajo colesterol HDL, y tensión arterial elevada. La isquemia miocárdica y la enfermedad microvascular es una morbilidad establecida, asociada con síndrome metabólico no tratado o malamente controlado.

35 Existe una necesidad continua de nuevos agentes contra la obesidad y antidiabéticos, particularmente aquellos que sean bien tolerados con pocos efectos adversos.

GPR119 (previamente denominado como GPR116) es un GPCR identificado como SNORF25 en el documento WO 00/50562 que describe tanto los receptores humanos como de rata, y el documento US 6.468.756 también describe el receptor de ratón (números de acceso: AAN95194 (humano), AAN95195 (rata) y ANN95196 (ratón)).

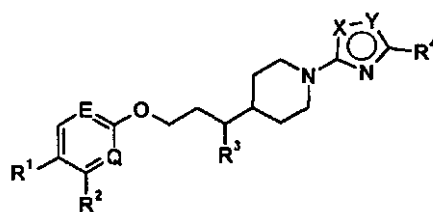
40 En seres humanos, GPR119 se expresa en el páncreas, intestino delgado, colon y tejido adiposo. El perfil de expresión del receptor GPR119 humano indica su utilidad potencial como una diana para el tratamiento de obesidad y diabetes.

45 Las Solicitudes de Patentes Internacionales WO 2005/061489, WO 2006/070208, WO 2006/067531 y WO 2006/067532 describen derivados heterocíclicos como agonistas del receptor GPR119. Las Solicitudes de Patentes Internacionales WO 2007/003960, WO 2007/003961, WO 2007/003962 y WO 2007/003964 (publicadas después de la fecha de prioridad de la presente Solicitud) describen agonistas del receptor GPR119 adicionales.

La presente invención se refiere a agonistas de GPR119 que son útiles para el tratamiento de obesidad, por ejemplo como reguladores periféricos de la saciedad, síndrome metabólico y para el tratamiento de diabetes.

SUMARIO DE LA INVENCION

50 Los compuestos de fórmula (I):

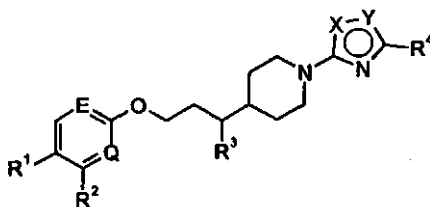


(I)

o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, son agonistas de GPR119, y son útiles para el tratamiento profiláctico o terapéutico de la obesidad y diabetes.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

- 5 La presente invención se refiere a un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



(I)

en la que uno de X e Y es O y el otro es N;

uno de E y Q es N y el otro es CH;

R¹ es SO₂R⁵ o -CONHR⁶;

- 10 R² es hidrógeno o metilo;

R³ es hidrógeno o metilo;

R⁴ es alquilo de C₂₋₅;

R⁵ es alquilo de C₁₋₃; y

R⁶ es hidrógeno, alquilo de C₁₋₃, o alquilo de C₂₋₃ sustituido con hidroxilo.

- 15 En una realización de la invención, X es O y en otra Y es O.

X es preferiblemente O.

Y es preferiblemente N.

Q es preferiblemente N.

E es preferiblemente CH.

- 20 Cuando R¹ es CONHR⁶, R² es preferiblemente metilo.

En una realización de la invención, R³ es hidrógeno, y en otra R³ es metilo. Cuando R³ es metilo, el estereocentro creado tiene preferiblemente la configuración (R).

R⁴ es preferiblemente alquilo de C₃₋₄, particularmente *n*-propilo, isopropilo, o terc-butilo, incluso más preferiblemente alquilo de C₃, especialmente isopropilo.

- 25 R⁵ es preferiblemente metilo.

Cuando R⁶ es alquilo de C₂₋₃ sustituido con hidroxilo, puede estar sustituido con uno o más, por ejemplo 1 ó 2, preferiblemente 1 grupo hidroxilo.

R⁶ es preferiblemente alquilo de C₁₋₃ o alquilo de C₂₋₃ sustituido con hidroxilo, más preferiblemente alquilo de C₂₋₃ sustituido con hidroxilo, por ejemplo 2-hidroxietilo, 2-hidroxi-1-metiletilo, 2,3-dihidroxipropilo o 2-hidroxi-1-hidroximetiletilo, preferiblemente 2-hidroxietilo o 2-hidroxi-1-metiletilo, incluso más preferiblemente 2-hidroxi-1-metiletilo, especialmente (R)-2-hidroxi-1-metiletilo.

5 Aunque los grupos preferidos para cada variable se han enunciado generalmente antes de forma separada para cada variable, los compuestos preferidos de esta invención incluyen aquellos en los que varias o cada variable en la fórmula (I) se selecciona de los grupos listados preferidos, más preferidos o particularmente listados para cada variable. Por lo tanto, esta invención pretende incluir todas las combinaciones de grupos listados preferidos, más preferidos y particularmente listados.

10 Los compuestos específicos de la invención que se pueden mencionar son aquellos incluidos en los Ejemplos y sus sales farmacéuticamente aceptables.

Como se usa aquí, salvo que se establezca lo contrario, "alquilo" significa cadenas de carbono que pueden ser lineales o ramificadas o combinaciones de las mismas. Los ejemplos de grupos alquilo incluyen metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, sec- y terc-butilo, y pentilo.

15 El término "halo" incluye átomos de flúor, cloro, bromo y yodo, en particular flúor o cloro, especialmente flúor.

Los compuestos descritos aquí pueden contener uno o más centros asimétricos, y de este modo pueden dar lugar a diastereómeros e isómeros ópticos. La presente invención incluye todos los tales diastereómeros posibles así como sus mezclas racémicas, sus enantiómeros resueltos sustancialmente puros, todos los posibles isómeros geométricos, y sus sales farmacéuticamente aceptables. La fórmula (I) anterior se muestra sin una estereoquímica definida en ciertas posiciones. La presente invención incluye todos los estereoisómeros de fórmula (I) y sus sales farmacéuticamente aceptables. Adicionalmente, también están incluidas las mezclas de estereoisómeros así como los estereoisómeros específicos aislados. Durante el transcurso de los procedimientos sintéticos usados para preparar tales compuestos, o en al usar procedimientos de racemización o epimerización conocidos por los expertos en la técnica, los productos de tales procedimientos pueden ser una mezcla de estereoisómeros.

25 Cuando el compuesto de fórmula (I) y sus sales farmacéuticamente aceptables existan en la forma de solvatos o formas polimórficas, la presente invención incluye cualesquiera solvatos y formas polimórficas posibles. Un tipo de un disolvente que forma el solvato no está particularmente limitado en la medida en que el disolvente sea farmacológicamente aceptable. Por ejemplo, se pueden usar agua, etanol, propanol, acetona o similares.

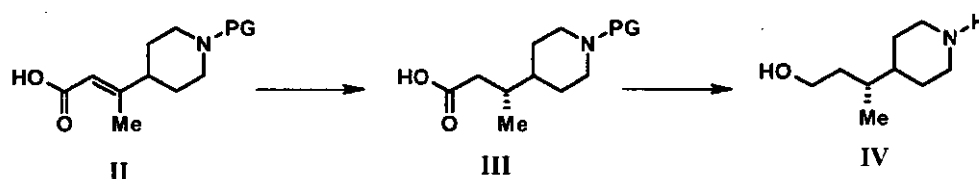
30 La expresión "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a sales preparadas a partir de ácidos no tóxicos farmacéuticamente aceptables, incluyendo ácidos orgánicos e inorgánicos. Tales ácidos incluyen, por ejemplo, ácido clorhídrico, metanosulfónico, sulfúrico, p-toluenosulfónico y similares.

Puesto que los compuestos de fórmula (I) están destinados a un uso farmacéutico, se proporcionan preferiblemente en forma sustancialmente pura, por ejemplo al menos 60% pura, más adecuadamente al menos 75% pura, especialmente al menos 98% pura (los % están en una base de peso a peso).

35 Los compuestos de fórmula (I) se pueden preparar como se describe más abajo. PG representa un grupo protector, G es un oxadiazol sustituido como se define anteriormente, y R¹, R², R³ y R⁴ también son como se definen anteriormente.

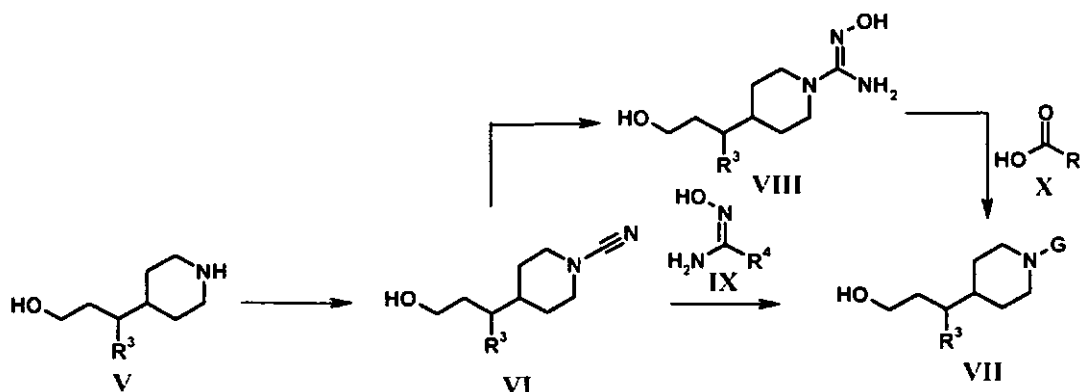
Los compuestos de fórmula (II), en la que PG es un grupo protector adecuado, se pueden preparar fácilmente a partir de compuestos conocidos (Esquema 1). Por ejemplo, el éster etílico del compuesto (II), en el que PG es Boc, se ha dado a conocer previamente (patente US 6.518.423). La hidrogenación en condiciones estándar producirá el compuesto racémico de fórmula (III). La reducción quiral del alqueno en condiciones adecuadas, tal como una hidrogenación en presencia de un catalizador quiral, produce compuestos de fórmula (III) en un exceso enantiomérico elevado. Un ejemplo de un catalizador adecuado es [Rh(norbornadieno)₂]BF₄ y (S)-1-[(R)-2-(di-terc-butilfosfina)ferrocenil]-etilbis(2-metilfenil)fosfina. Los compuestos de fórmula (IV) se pueden obtener entonces mediante reducción de los ácidos carboxílicos de fórmula (III) en condiciones estándar, por ejemplo borano en un disolvente adecuado tal como THF. La eliminación del grupo protector se logra entonces en condiciones bien conocidas por aquellos con pericia en la técnica.

Esquema 1



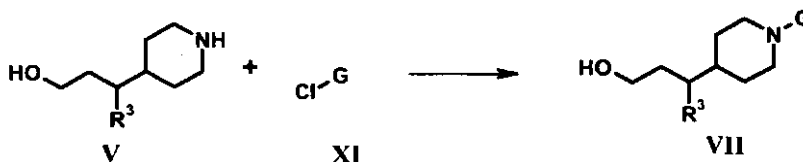
El compuesto de fórmula (V), en la que $R^3 = H$, es un compuesto conocido (Esquema 2, Siegel, M. G. et al. Tetrahedron 1999, 55, 11619-11639). Los compuestos de fórmula (VII) se pueden preparar a partir de compuestos de fórmula (V) en condiciones estándar. Por ejemplo, el tratamiento de compuestos de fórmula (V) con bromuro de cianógeno, seguido de la condensación de la cianamida resultante (VI) con un compuesto de fórmula (IX) en condiciones estándar produce compuestos de fórmula (VII) en la que X es O. Los compuestos de fórmula (IX) están comercialmente disponibles, o se preparan fácilmente a partir de los ácidos carboxílicos correspondientes usando técnicas bien conocidas. Como alternativa, la síntesis del oxadiazol regioisomérico, en el que Y es O, se puede lograr calentando compuestos de fórmula (VI) con hidroxilamina para dar *N*-hidroxiguanidinas de fórmula (VIII), que se pueden condensar con un ácido carboxílico de fórmula (X) en condiciones adecuadas. Los ácidos de fórmula (X) están comercialmente disponibles.

Esquema 2



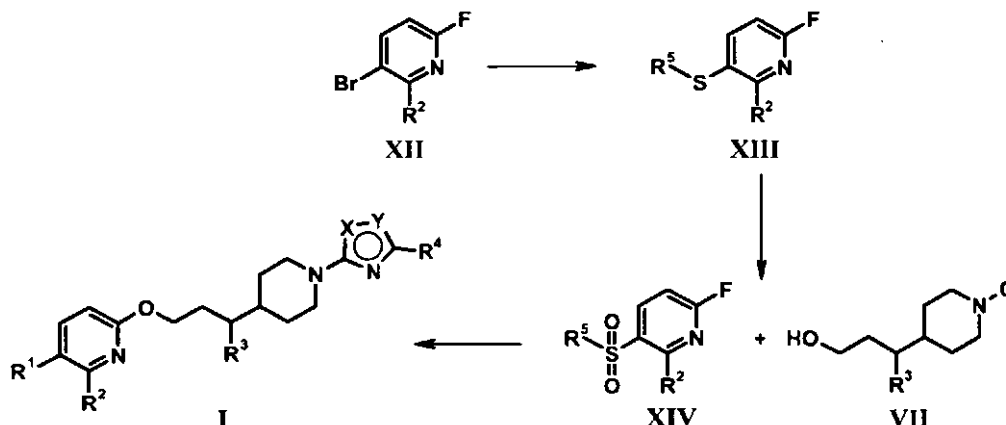
Los compuestos de la fórmula (VII) también se pueden preparar mediante condensación de amina (V) con un cloruro de oxadiazol de fórmula (XI), como se ilustra en el Esquema 3 (Buscemi, S. et al. JCS Perkin 1: Org. and Bioorg. Chem. 1988, 1313 y Adembri, G, et al. JCS Perkin I: Org. and Bioorg. Chem., 1981, 1703).

Esquema 3



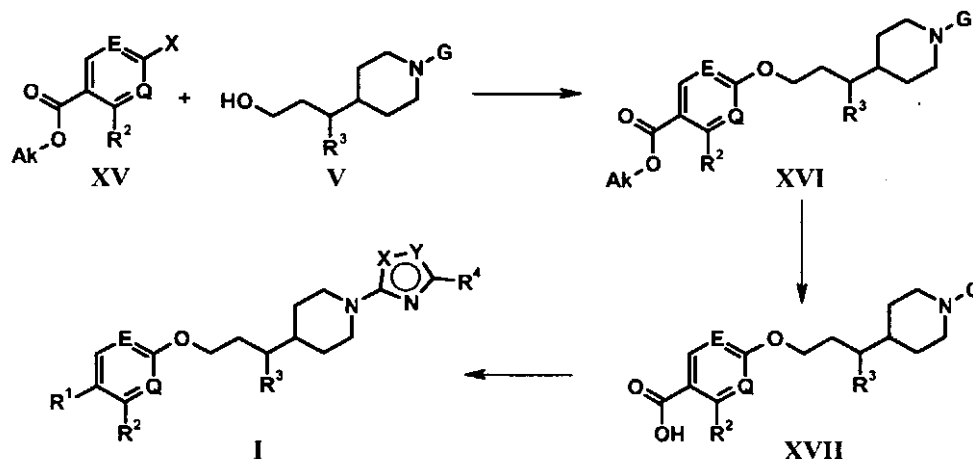
Los compuestos de fórmula (I), en la que R^1 es una sulfona, se pueden producir como se representa en el Esquema 4. Por ejemplo, el compuesto de fórmula (XII), en la que R^2 es hidrógeno, está comercialmente disponible. El intercambio de bromo-metal usando butil-litio en un disolvente adecuado tal como tolueno, en presencia de un agente quelante tal como TMEDA si es necesario, a baja temperatura, seguido de la adición de dimetildisulfuro, produce compuestos de fórmula (XIII) en la que R^5 es metilo. La oxidación a la sulfona se produce usando un agente oxidante estándar, tal como *m*-CPBA, para dar compuestos de fórmula (XIV). Los compuestos de fórmula (I) se forman entonces por desplazamiento del grupo 2-fluoro en los compuestos de fórmula (XIV) con el alcóxido de un compuesto de fórmula (VII) en condiciones estándar.

Esquema 4



Los compuestos de fórmula (I) que contienen una amida se pueden producir como se representa en el Esquema 5. Los compuestos de fórmula (XV), en la que E o Q son nitrógeno, y X es un grupo saliente, se han dado a conocer previamente en la bibliografía, o se pueden preparar fácilmente usando técnicas conocidas. Por ejemplo, cuando E es nitrógeno, R² es metilo, Ak es etilo, y X es -S-etilo, se ha dado a conocer por Yamazi, Y., et al. *Chemotherapy* 1996, 14, 448. La oxidación del grupo sulfuro a una sulfona en condiciones estándar, usando por ejemplo *m*-CPBA, produce un compuesto adecuado para el acoplamiento con un compuesto de fórmula (V). Otro ejemplo es cuando Q es nitrógeno, R² es metilo, Ak es etilo, y X es cloro, se ha dado a conocer por Ramirez, F., et al. *J. Org. Chem.*, 1954, 19, 183. Los compuestos de fórmula (I) se producen entonces por sustitución del grupo saliente en compuestos de fórmula (XV) con el alcóxido de un compuesto de fórmula (V) en condiciones estándar. La hidrólisis del éster de fórmula (XVI) en condiciones estándar, por ejemplo usando hidróxido de litio acuoso a una temperatura de alrededor de la temperatura ambiente, produce ácidos de fórmula (XVII). La formación del enlace amídico en condiciones estándar bien conocidas por aquellos de pericia en la técnica produce los compuestos deseados de fórmula (I).

Esquema 5



Otros compuestos de fórmula (I) se pueden preparar mediante métodos análogos a los descritos anteriormente, o mediante métodos conocidos *per se*. En los ejemplos se encuentran detalles adicionales para la preparación de los compuestos de fórmula (I).

Los compuestos de fórmula (I) se pueden preparar individualmente o como bibliotecas de compuestos que comprenden al menos 2 compuestos, por ejemplo 5 a 1.000, y más preferiblemente 10 a 100 compuestos de fórmula (I). Las bibliotecas de compuestos se pueden preparar mediante un enfoque combinatorio de "división y mezcla" o mediante síntesis paralela múltiple usando química en fase de disolución o sólida, usando procedimientos conocidos por los expertos en la técnica.

Durante la síntesis de los compuestos de fórmula (I), se pueden proteger los grupos funcionales lábiles en los compuestos intermedios, por ejemplo grupos hidroxilo, carboxilo y amino. Los grupos protectores se pueden eliminar en cualquier etapa en la síntesis de los compuestos de fórmula (I), o pueden estar presentes en el compuesto final de fórmula (I). Una exposición amplia de las formas en que se pueden proteger diversos grupos funcionales lábiles, y

los métodos para escindir los derivados protegidos resultantes, se proporciona, por ejemplo, en la publicación Protective Groups in Organic Chemistry, T.W. Greene y P.G.M. Wuts (1991), Wiley-Interscience, New York, 2ª edición.

5 Cualesquiera intermedios nuevos, tales como aquellos definidos anteriormente, pueden ser de uso en la síntesis de compuestos de fórmula (I), y por lo tanto también están incluidos en el alcance de la invención, por ejemplo compuestos de fórmulas (XVI) y (XVII), o una sal o derivado protegido de los mismos.

Como se indica anteriormente, los compuestos de fórmula (I) son útiles como agonistas de GPR119, por ejemplo para el tratamiento y/o profilaxis de obesidad y diabetes. Para tal uso, los compuestos de fórmula (I) se administrarán generalmente en forma de una composición farmacéutica.

10 La invención también proporciona un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso como fármaco.

La invención también proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) en combinación con un vehículo farmacéuticamente aceptable.

15 Preferiblemente, la composición comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y una cantidad no tóxica, terapéuticamente eficaz, de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Además, la invención también proporciona una composición farmacéutica para el tratamiento de una enfermedad modulando GPR119, dando como resultado el tratamiento profiláctico o terapéutico de obesidad, por ejemplo regulando la saciedad, o para el tratamiento de diabetes, que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y una cantidad no tóxica, terapéuticamente eficaz, de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

20 Las composiciones farmacéuticas pueden comprender opcionalmente otros ingredientes o adyuvantes terapéuticos. Las composiciones incluyen composiciones adecuadas para la administración oral, rectal, tópica y parenteral (incluidas la subcutánea, intramuscular e intravenosa), aunque la vía más adecuada en cualquier caso dado dependerá del hospedante particular y de la naturaleza y gravedad de las afecciones para las que esté siendo administrado el ingrediente activo. Las composiciones farmacéuticas se pueden presentar convenientemente en una forma de dosificación unitaria, y se pueden preparar mediante cualquiera de los métodos bien conocidos en la técnica de la farmacia.

25 En la práctica, los compuestos fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, se pueden combinar como el ingrediente activo en una mezcla íntima con un vehículo farmacéutico según las técnicas convencionales de combinaciones farmacéuticas. El vehículo puede adoptar una amplia variedad de formas, dependiendo de la forma de preparación deseada para la administración, por ejemplo oral o parenteral (incluida la intravenosa).

30 De este modo, las composiciones farmacéuticas se pueden presentar como unidades discretas adecuadas para administración oral, tales como cápsulas, bolsitas o comprimidos, conteniendo cada uno una cantidad predeterminada del ingrediente activo. Adicionalmente, las composiciones se pueden presentar como un polvo, como gránulos, como una disolución, como una suspensión en un líquido acuoso, como un líquido no acuoso, como una emulsión de aceite en agua o como una emulsión líquida de agua en aceite. Además de las formas habituales de dosificación expuestas anteriormente, el compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, también se puede administrar por medios de liberación controlada y/o mediante dispositivos de suministro. Las composiciones se pueden preparar mediante cualquiera de los métodos de farmacia. En general, tales métodos incluyen una etapa de asociar el ingrediente activo con el vehículo que constituye uno o más ingredientes necesarios. En general, las composiciones se preparan mezclando de forma uniforme e íntima el ingrediente activo con vehículos líquidos o vehículos sólidos finamente divididos o ambos. El producto se puede conformar entonces convenientemente en la presentación deseada.

35 Los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, se pueden incluir en composiciones farmacéuticas en combinación con uno o más de otros compuestos terapéuticamente activos.

El vehículo farmacéutico empleado puede ser, por ejemplo, un sólido, líquido o gas. Ejemplos de vehículos sólidos incluyen lactosa, tierra de diatomeas, sacarosa, talco, gelatina, agar, pectina, goma arábiga, estearato de magnesio y ácido esteárico. Ejemplos de vehículos líquidos son jarabe de azúcar, aceite de cacahuete, aceite de oliva y agua. Ejemplos de vehículos gaseosos incluyen dióxido de carbono y nitrógeno.

40 Al preparar las composiciones para la forma de dosificación oral, se pueden emplear cualesquiera medios farmacéuticos convenientes. Por ejemplo, se pueden usar agua, glicoles, aceites, alcoholes, agentes para dar sabor, conservantes, agentes colorantes, y similares, para formar preparaciones líquidas orales, tales como suspensiones, elixires y disoluciones; aunque se pueden usar vehículos tales como almidones, azúcares, celulosa microcristalina, diluyentes, agentes de granulación, lubricantes, aglutinantes, agentes disgregantes, y similares, para formar preparaciones sólidas orales tales como polvos, cápsulas y comprimidos. Debido a su facilidad de administración, los comprimidos y cápsulas son las unidades de dosificación oral preferidas, con lo que se usan vehículos

farmacéuticos sólidos. Opcionalmente, los comprimidos se pueden revestir mediante técnicas estándar acuosas o no acuosas.

Un comprimido que contiene la composición de esta invención se puede preparar mediante compresión o moldeo, opcionalmente con uno o más ingredientes o adyuvantes accesorios. Los comprimidos se pueden preparar comprimiendo, en una máquina adecuada, el ingrediente activo en una forma fluida con polvo o gránulos, opcionalmente mezclado con un aglutinante, lubricante, diluyente inerte, tensioactivo o agente dispersante. Los comprimidos moldeados se pueden preparar moldeando en una máquina adecuada una mezcla del compuesto en polvo humedecido con un diluyente líquido inerte. Cada comprimido contiene preferiblemente de alrededor de 0,05 mg a alrededor de 5 g del ingrediente activo, y cada bolsita o cápsula contiene preferiblemente de alrededor de 0,05 mg a alrededor de 5 g del ingrediente activo.

Por ejemplo, una formulación destinada a la administración oral a seres humanos puede contener de alrededor de 0,5 mg a alrededor de 5 g del ingrediente activo, combinado con una cantidad apropiada y conveniente de material portador que puede variar de alrededor de 5 a alrededor de 95 por ciento de la composición total. Las formas de dosificación unitaria contendrán generalmente entre alrededor de 1 mg y alrededor de 2 g del ingrediente activo, típicamente 25 mg, 50 mg, 100 mg, 200 mg, 300 mg, 400 mg, 500 mg, 600 mg, 800 mg o 1000 mg.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención adecuadas para administración parenteral se pueden preparar como disoluciones o suspensiones de los compuestos activos en agua. Se puede incluir un tensioactivo adecuado, tal como, por ejemplo, hidroxipropilcelulosa. También se pueden preparar dispersiones en glicerol, polietilenglicoles líquidos, y sus mezclas en aceites. Adicionalmente, se puede incluir un conservante para evitar el crecimiento perjudicial de microorganismos.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención adecuadas para un uso inyectable incluyen disoluciones o dispersiones acuosas estériles. Además, las composiciones pueden estar en forma de polvos estériles para la preparación extemporánea de tales disoluciones o dispersiones inyectables estériles. En todos los casos, la forma inyectable final debe de ser estéril, y debe de ser eficazmente fluida para una fácil aplicación en jeringuillas. Las composiciones farmacéuticas deben de ser estables bajo las condiciones de fabricación y almacenamiento; de este modo, preferiblemente se deben de preservar de la acción contaminante de microorganismos tales como bacterias y hongos. El vehículo puede ser un disolvente o medio de dispersión que contenga, por ejemplo, agua, etanol, poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol y polietilenglicol líquido), aceites vegetales, y sus mezclas adecuadas.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden estar en una forma adecuada para un uso tópico, tal como, por ejemplo, un aerosol, crema, ungüento, loción, polvo fino, o similar. Adicionalmente, las composiciones pueden estar en una forma adecuada para uso en dispositivos transdérmicos. Estas formulaciones se pueden preparar usando un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, a través de métodos convencionales de procesamiento. Como ejemplo, una crema o ungüento se prepara mezclando un material hidrófilo y agua junto con alrededor de 5% en peso a alrededor de 10% en peso del compuesto, para producir una crema o ungüento que tiene una consistencia deseada.

Las composiciones farmacéuticas de esta invención pueden estar en una forma adecuada para administración rectal, en la que el vehículo es un sólido. Es preferible que la mezcla forme supositorios de dosis unitarias. Los vehículos adecuados incluyen manteca de cacao y otros materiales usados comúnmente en la técnica. Los supositorios se pueden formar convenientemente mezclando en primer lugar la composición con el (o los) vehículo(s) reblandecido(s) o fundido(s), seguido de un enfriamiento y conformación en moldes.

Además de los ingredientes vehículos anteriormente mencionados, las formulaciones farmacéuticas descritas anteriormente pueden incluir, según sea apropiado, uno o más ingredientes vehículos adicionales, tales como diluyentes, tampones, agentes para dar sabor, aglutinantes, agentes tensioactivos, espesantes, lubricantes, conservantes (incluyendo antioxidantes), y similares. Además de ello, se pueden incluir otros adyuvantes para hacer que la formulación sea isotónica con la sangre del receptor previsto. Las composiciones que contienen un compuesto de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, se pueden preparar también en forma de polvos o concentrados líquidos.

Generalmente, son útiles niveles de dosificación del orden de 0,01 mg/kg a alrededor de 150 mg/kg de peso corporal por día en el tratamiento de las afecciones indicadas anteriormente, o, como alternativa, de alrededor de 0,5 mg a alrededor de 7 g por paciente por día. Por ejemplo, la obesidad se puede tratar eficazmente mediante la administración de alrededor de 0,01 a 50 mg del compuesto por kilogramo de peso corporal por día, o, como alternativa, de alrededor de 0,5 mg a alrededor de 3,5 g por paciente por día.

Sin embargo, se entiende que el nivel de dosis específica para cualquier paciente particular dependerá de una variedad de factores que incluyen la edad, peso corporal, salud general, sexo, dieta, tiempo de administración, vía de administración, velocidad de excreción, combinación de fármacos y la gravedad de la enfermedad particular que está experimentando la terapia.

Los compuestos de fórmula (I) se pueden usar en el tratamiento de enfermedades o afecciones en las que GPR119 desempeña un papel.

Un método para el tratamiento de una enfermedad o afección en la que GPR119 desempeña un papel comprende una etapa de administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

5 Las enfermedades o afecciones en las que GPR119 desempeña un papel incluyen obesidad y diabetes. En el contexto de la presente solicitud, el tratamiento de obesidad está destinado a englobar el tratamiento de enfermedades o afecciones tales como obesidad y otros trastornos alimentarios asociados con una ingesta excesiva de alimentos, por ejemplo mediante reducción del apetito y del peso corporal, mantenimiento de la reducción del peso y prevención del rebote, y diabetes (incluyendo diabetes Tipo 1 y Tipo 2, tolerancia alterada a la glucosa, resistencia a insulina y complicaciones diabéticas tales como neuropatía, nefropatía, retinopatía, cataratas, complicaciones cardiovasculares y dislipidemia). Y el tratamiento de pacientes que tienen una sensibilidad anormal a grasas ingeridas, lo que conduce a dispepsia funcional. Los compuestos de la invención también se pueden usar para tratar enfermedades metabólicas tales como síndrome metabólico (síndrome X), tolerancia alterada a la glucosa, hiperlipidemia, hipertrigliceridemia, hipercolesterolemia, niveles bajos de HDL, e hipertensión.

10 Los compuestos de la invención pueden ofrecer ventajas con respecto a los compuestos que actúan vía mecanismos diferentes para el tratamiento de los trastornos mencionados anteriormente, por cuanto pueden ofrecer protección de células beta, aumento de la secreción de cAMP y de insulina, y también un vaciamiento gástrico lento.

15 Los compuestos de la invención también se pueden usar para tratar afecciones caracterizadas por masa ósea baja, tales como osteopenia, osteoporosis, artritis reumatoide, osteoartritis, enfermedad periodontal, pérdida de hueso alveolar, pérdida de hueso por osteotomía, pérdida de hueso idiopática de la niñez, enfermedad de Paget, pérdida de hueso debido a cáncer metastásico, lesiones osteolíticas, curvatura de la médula espinal, y pérdida de peso.

Un método para la regulación de la saciedad comprende una etapa de administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Un método para el tratamiento de obesidad comprende una etapa de administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

25 Un método para el tratamiento de diabetes, incluyendo diabetes Tipo 1 y Tipo 2, particularmente diabetes tipo 2, comprende una etapa de administrar a un paciente que lo necesite una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

30 Un método para el tratamiento de síndrome metabólico (síndrome X), tolerancia alterada a la glucosa, hiperlipidemia, hipertrigliceridemia, hipercolesterolemia, niveles bajos de HDL o hipertensión comprende una etapa de administrar a un paciente que lo necesite una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

La invención también proporciona un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en el tratamiento de una afección como se define anteriormente.

35 La invención también proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una afección como se define anteriormente.

En los métodos de la invención, el término "tratamiento" incluye el tratamiento tanto terapéutico como profiláctico.

40 Los compuestos de fórmula (I) pueden mostrar propiedades ventajosas en comparación con los agonistas de GPR119 conocidos, por ejemplo los compuestos pueden mostrar potencia o estabilidad mejorada, o solubilidad mejorada, mejorando así las propiedades de absorción y biodisponibilidad, u otras propiedades ventajosas para compuestos a usar como fármacos.

45 Los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, se pueden administrar solos o en combinación con uno o más compuestos terapéuticamente activos. Los otros compuestos terapéuticamente activos pueden ser para el tratamiento de la misma enfermedad o afección que los compuestos de fórmula (I), o una enfermedad o afección diferente. Los compuestos terapéuticamente activos se pueden administrar simultánea, secuencial o separadamente.

50 Los compuestos de fórmula (I) se pueden administrar con otros compuestos activos para el tratamiento de obesidad y/o diabetes, por ejemplo insulina y análogos de insulina, inhibidores de lipasa gástrica, inhibidores de lipasa pancreática, sulfonilureas y análogos, biguanidas, agonistas $\alpha 2$, glitazonas, agonistas de PPAR- γ , agonistas mixtos de PPAR- α/γ , agonistas de RXR, inhibidores de la oxidación de ácidos grasos, inhibidores de α -glucosidasa, inhibidores de dipeptidil peptidasa IV, agonistas de GLP-1, por ejemplo análogos y miméticos de GLP-1, β -agonistas, inhibidores de fosfodiesterasas, agentes reductores de lípidos, inhibidores de glucógeno fosforilasa, agentes contra la obesidad, por ejemplo inhibidores de lipasa pancreática, antagonistas de MCH-1 y antagonistas de CB-1 (o agonistas inversos), antagonistas de amilina, inhibidores de lipoxigenasa, análogos de somostatina, activadores de glucocinasa, antagonistas de glucagón, agonistas de la señalización de insulina, inhibidores de PTP1B, inhibidores de la gluconeogénesis, agentes antilipolíticos, inhibidores de GSK, agonistas del receptor de galanina, agentes

anoréxicos, agonistas del receptor de CCK, leptina, fármacos serotoninérgicos/dopaminérgicos contra la obesidad, inhibidores de la recaptación, por ejemplo sibutramina, antagonistas de CRF, proteínas de unión a CRF, compuestos tiromiméticos, inhibidores de aldosa reductasa, antagonistas del receptor de glucocorticoides, inhibidores de NHE-1, o inhibidores de sorbitol deshidrogenasa.

- 5 La terapia de combinación, que comprende la administración de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y al menos algún otro agente contra la obesidad, representa un aspecto adicional de la invención.

10 Un método para el tratamiento de obesidad en un mamífero, tal como un ser humano, comprende administrar una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y otro agente contra la obesidad, a un mamífero que lo necesite.

La invención también proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y otro agente contra la obesidad, para el tratamiento de obesidad.

15 La invención también proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la fabricación de un medicamento para uso en combinación con otro agente contra la obesidad, para el tratamiento de obesidad.

El compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y el otro u otros agentes contra la obesidad se pueden coadministrar o administrar secuencial o separadamente.

20 La coadministración incluye la administración de una formulación que incluye tanto el compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como el otro u otros agentes contra la obesidad, o la administración simultánea o separada de diferentes formulaciones de cada agente. Cuando lo permitan los perfiles farmacológicos del compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y el otro u otros agentes contra la obesidad, se puede preferir la coadministración de los dos agentes.

La invención también proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y otro agente contra la obesidad en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de obesidad.

25 La invención también proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y otro agente contra la obesidad, y un vehículo farmacéuticamente aceptable. La invención también engloba el uso de tales composiciones en los métodos descritos anteriormente.

Los agonistas de GPR119 son de uso particular en combinación con agentes antiobesidad que actúan centralmente.

30 El otro agente contra la obesidad para uso en las terapias de combinación según este aspecto de la invención es preferiblemente un modulador de CB-1, por ejemplo un antagonista o agonista inverso de CB-1. Los ejemplos de moduladores de CB-1 incluyen SR141716 (rimonabant) y SLV-319 ((4S)-(-)-3-(4-clorofenil)-N-metil-N-[(4-clorofenil)sulfonil]-4-fenil-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-carboxamida); así como los compuestos descritos en los documentos EP576357, EP656354, WO 03/018060, WO 03/020217, WO 03/020314, WO 03/026647, WO 03/026648, WO 03/027076, WO 03/040105, WO 03/051850, WO 03/051851, WO 03/053431, WO 03/063781, WO 03/075660, WO 03/077847, WO 03/078413, WO 03/082190, WO 03/082191, WO 03/082833, WO 03/084930, WO 03/084943, WO 03/086288, WO 03/087037, WO 03/088968, WO 04/012671, WO 04/013120, WO 04/026301, WO 04/029204, WO 04/034968, WO 04/035566, WO 04/037823, WO 04/052864, WO 04/058145, WO 04/058255, WO 04/060870, WO 04/060888, WO 04/069837, WO 04/069837, WO 04/072076, WO 04/072077, WO 04/078261 y WO 04/108728 y las referencias descritas allí.

40 Otras enfermedades o afecciones en las que se ha sugerido que GPR119 desempeña un papel incluyen las descritas en los documentos WO 00/50562 y US 6.468.756, por ejemplo trastornos cardiovasculares, hipertensión, trastornos respiratorios, anomalías gestacionales, trastornos gastrointestinales, trastornos inmunitarios, trastornos musculoesqueléticos, depresión, fobias, ansiedad, trastornos del humor y enfermedad de Alzheimer.

La invención se describirá ahora con referencia a los siguientes ejemplos que tienen fines ilustrativos.

45 EJEMPLOS

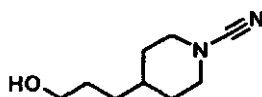
Materiales y Métodos

50 La cromatografía de columna se llevó a cabo en SiO₂ (malla 40-63) salvo que se especifique otra cosa. Los datos de LCMS se obtuvieron según lo siguiente: columna C₁₈ Atlantis de 3μ (3,0 x 20,0 mm, caudal = 0,85 ml/min), eluyendo durante 6 minutos con una disolución de H₂O-CH₃CN que contenía 0,1% de HCO₂H, con detección UV a 220 nm. Información del gradiente: 0,0-0,3 min: 100% H₂O; 0,3-4,25 min: ascensión hasta 10% H₂O-90% CH₃CN; 4,25-4,4 min: ascensión hasta 100% de CH₃CN; 4,4-4,9 min: mantenimiento a 100% de CH₃CN; 4,9-6,0 min: retorno a 100% de H₂O. Los espectros de masas se obtuvieron empleando una fuente de ionización por electropulverización en el modo de ion positivo (ES⁺) o ion negativo (ES⁻).

Abreviaturas y acrónimos: Ac: acetilo; *n*BU: *n*-butilo; *t*-Bu: *terc-butilo*; DIPEA: *N,N*-diisopropiletilamina; DMF: *N,N*-dimetilformamida; EDCI: hidrocloreuro de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida; Et: etilo; h: hora(s); HOBt: 1-hidroxibenzotriazol; HPLC: cromatografía de líquidos de altas prestaciones; IH: isohexano; *i*Pr: isopropilo; Me: metilo, RP: fase inversa; RT: tiempo de retención; THF: tetrahidrofurano; TMEDA: *N',N',N,N*-tetrametiletilendiamina.

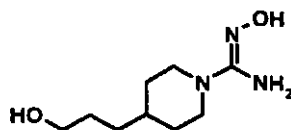
- 5 Las síntesis de los siguientes compuestos se ha dado a conocer previamente: 4-((E)-2-etoxicarbonil-1-metilvinil)piperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo: patente US 6.518.423; 6-hidroxi-2-metilnicotinato de etilo: Tetrahedron 1974, 30, 623-632; N-Hidroxiisobutiramidina: J. Org. Chem. 2003, 68, 7316-7321; 3-Piperidin-4-ilpropan-1-ol: Tetrahedron 1999, 55, 11619-11639. Todos los otros compuestos estaban disponibles de fuentes comerciales.

Preparación 1: 4-(3-Hidroxiopropil)piperidin-1-carbonitrilo



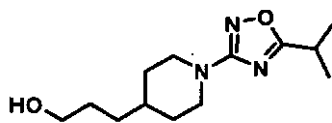
- 10 Una suspensión de NaHCO₃ (35,2 g, 0,42 moles) en H₂O (70 ml) se añadió a una disolución agitada de 3-piperidin-4-ilpropan-1-ol (20,0 g, 0,14 moles) en CH₂Cl₂ a 0°C. Una disolución de BrCN (17,8 g, 0,17 moles) en CH₂Cl₂ (19 ml) se añadió a la reacción durante 1 min., y después la agitación se continuó a 0°C durante 0,5 h. La reacción se agitó entonces a 20°C durante 2 h, antes de lavarla con NaHCO₃ acuoso saturado y salmuera. La disolución de CH₂Cl₂ se secó (mugSO₄), se filtró y se concentró a vacío para proporcionar un aceite que se disolvió en una pequeña cantidad de CH₂Cl₂, antes de filtrarlo a través de una almohadilla de SiO₂, eluyendo con EtOAc. El filtrado se concentró a presión reducida para producir el compuesto del título: *m/z* (ES⁺) = 169,1 [M + H]⁺.

Preparación 2: N-Hidroxi-4-(3-hidroxiopropil)piperidin-1-carboxamidina



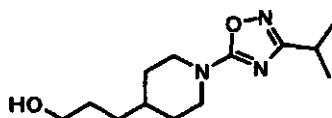
- 20 Una mezcla de 4-(3-hidroxiopropil)piperidin-1-carbonitrilo (**Preparación 1**, 3,00 g, 17,8 mmoles), K₂CO₃ (2,46 g, 17,8 mmoles), y H₂NOH-HCl (2,48 g, 35,7 mmoles) en EtOH (20 ml) y H₂O (30 ml) se calentó a reflujo durante 16 h. El EtOH se eliminó a vacío, y después la fase acuosa se extrajo con EtOAc (5x). La fase acuosa se saturó con NaCl, antes de extraerla nuevamente con EtOAc (5x). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron (MgSO₄), se filtraron, y se concentraron para producir el compuesto del título: *m/z* (ES⁺) = 202,1 [M + H]⁺.

25 **Preparación 3:** 3-[1-(S-Isopropil[1,2,4]oxadiazol-3-il)piperidin-4-il]propan-1-ol



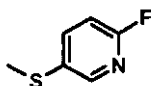
- 30 Se añadieron DIPEA (3,25 g, 25,2 mmoles), N-hidroxi-4-(3-hidroxiopropil)piperidin-1-carboxamidina (**Preparación 2**, 1,54 g, 7,6 mmoles), y HOBt (1,29 g, 8,4 mmoles) a una disolución agitada de ácido isobutírico (0,67 g, 7,6 mmoles) en DMF anhidra (10 ml). Tras 10 min., se añadió EDCI (1,76 g, 9,2 mmoles), y después la agitación se continuó durante 16 h. La reacción se diluyó con H₂O, y después la mezcla se extrajo con EtOAc (2x). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con NaHCO₃ acuoso saturado, con H₂O, y con salmuera, antes de secarlos (MgSO₄). La filtración y evaporación del disolvente produjeron un aceite amarillo que se trató con PhMe. La mezcla se calentó a reflujo durante 0,5 h. Al enfriar, la reacción se purificó mediante cromatografía en columna (IH-ETOAc, 2:3) para producir el compuesto del título: *m/z* (ES⁺) = 254,1 [M + H]⁺.

35 **Preparación 4:** 3-[1-(3-Isopropil[1,2,4]oxadiazol-5-il)piperidin-4-il]propan-1-ol



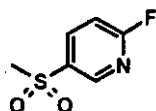
Se añadió ZnCl₂ (1M en Et₂O, 145 ml, 145 mmoles) durante 20 min. a una disolución agitada de 4-(3-hidroxipropil)piperidin-1-carbonitrilo (**Preparación 1**, 20,3 g, 121 mmoles) y N-hidroxiisobutiramida (14,8 g, 145 mmoles) en EtOAc (290 ml) y THF (270 ml). Después de 2 h, el precipitado blanco que se había formado se recogió y se lavó con THF-EtOAc (1:1, 50 ml). Este precipitado se disolvió en EtOH (550 ml) y HCl 12M (70 ml), y después la disolución se agitó con calentamiento hasta 70°C durante 16 h. El EtOH se eliminó a vacío, el resto se diluyó con H₂O, y después el pH se ajustó hasta 7 con NaHCO₃ sólido. La mezcla se extrajo con EtOAc (3x), y después los extractos combinados se lavaron con salmuera, antes de secarlos (MgSO₄). La filtración y la eliminación del disolvente produjeron el compuesto del título: m/z (ES⁺) = 254,1 [M + H]⁺.

Preparación 5: 2-Fluoro-5-metilsulfanilpiridina



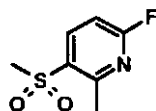
A una disolución de 5-bromo-2-fluoropiridina (3,00 g, 17,05 mmoles) y TMEDA (3,35 ml, 22,17 mmoles) en tolueno (200 ml) a -75°C en argón se añadió *n*-butil-litio 1,6 M en hexano (12,8 ml, 20,46 mmoles) durante 10 min., y la mezcla se agitó durante 50 min. antes de añadir disulfuro de dimetilo (1,84 ml, 20,46 mmoles). La reacción se agitó durante 1 h a -75°C, después se calentó hasta 2°C, y se paralizó con disolución saturada de NH₄Cl (40 ml). La fase orgánica se recogió, se lavó con salmuera, se secó (MgSO₄), y el disolvente se eliminó a vacío para dar un residuo que se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (SiO₂), eluyendo con 2,5% de EtOAc y 97,5% de 1H para producir el compuesto del título. RT = 2,64 min.; m/z (ES⁺) = 143,95 [M+H]⁺.

Preparación 6: 2-Fluoro-5-metanosulfonilpiridina



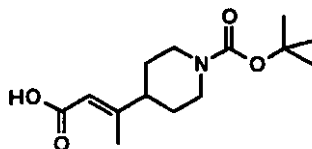
A una disolución de 2-fluoro-5-metilsulfanilpiridina (**Preparación 5**, 0,30 g, 2,10 mmoles) en CH₂Cl₂ (7 ml) a 0°C se añadió ácido 3-cloroperbenzoico al 77% (0,97 g, 4,30 mmoles) durante 15 min. Se añadió otra alícuota de CH₂Cl₂ (5 ml), y la mezcla se agitó durante 1 h. La mezcla de reacción se diluyó con CH₂Cl₂ (25 ml), se lavó con Na₂CO₃ (15 ml), y la fase orgánica se recogió a través de una frita hidrófoba. El disolvente se eliminó a vacío para producir el compuesto del título. RT = 1,64 min.; m/z (ES⁺) = 175,90 [M+H]⁺.

Preparación 7: 6-Fluoro-3-metanosulfonil-2-metilpiridina

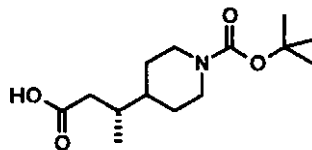


La 3-bromo-6-fluoro-2-metilpiridina se convirtió en 6-fluoro-2-metil-3-metilsulfanilpiridina empleando un procedimiento similar al esquematizado en la **Preparación 5**: m/z (ES⁺) = 157,87 [M+H]⁺. La oxidación, utilizando un protocolo similar al dado en la **Preparación 6**, proporcionó el compuesto del título: RT = 2,13 min.; m/z (ES⁺) = 189,89 [M+H]⁺.

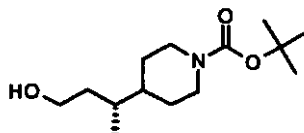
Preparación 8: 4-((*E*)-2-Carboxi-1-metilvinil)piperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo



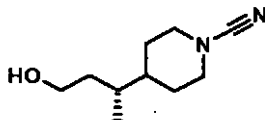
Una disolución de 4-((*E*)-2-etoxicarbonil-1-metilvinil)piperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (18,7 g, 62,9 mmoles) en MeOH (90 ml) y H₂O (25 ml) se trató con NaOH 2M (94,5 ml, 189,0 mmoles). La reacción se agitó durante 16 h, el MeOH se eliminó a presión reducida, y después el resto se repartió entre EtOAc y H₂O. La capa acuosa se separó y se acidificó hasta pH 2 con HCl 12M, antes de extraerla con EtOAc (2x). Los extractos orgánicos se lavaron con salmuera, se secaron (MgSO₄), se filtraron, y se concentraron, y después el resto se recrystalizó en EtOAc-1H para proporcionar el compuesto del título: m/z (ES⁻) = 268,3 [M - H]⁻.

Preparación 9: 4-((*R*)-2-Carboxi-1-metiletil)piperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo

Se colocó 4-((*E*)-2-carboxi-1-metilvinil)piperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (**Preparación 8**, 130,0 g, 0,483 moles) en un matraz de hidrogenación en una atmósfera de Ar, y después se añadió MeOH desgasificado (400 ml). Se colocaron [Rh(norbornadieno)₂]BF₄ (1,80 g, 4,81 mmoles) y (*S*)-1-[(*R*)-2-(di-*terc*-butilfosfino)ferrocenil]etilbis(2-metilfenil)fosfina (2,90 g, 5,08 mmoles) en un matraz Schlenk separado, en Ar, antes de tratarlos con MeOH desgasificado (200 ml). Esta mezcla catalítica se agitó durante 15 min. a temperatura ambiente, antes de transferirla vía una cánula al matraz de hidrogenación. El matraz Schlenk se enjuagó con más MeOH desgasificado (100 ml). Estos lavados se transfirieron al matraz de hidrogenación, y después se añadió más MeOH desgasificado (300 ml). El matraz de hidrogenación se cerró herméticamente, el Ar se sustituyó por H₂, y la presión se ajustó hasta 1,05 bares. La mezcla de reacción se calentó hasta 35°C, y se comenzó la agitación/sacudida. Tras 48 h, la reacción se detuvo, y se analizó una muestra representativa de la mezcla de reacción mediante HPLC y RMN ¹H. La conversión fue 100%, y la pureza enantiomérica del ácido (*R*) bruto fue 98,2% según se averiguó mediante el siguiente método por HPLC: columna: CHIRALPAK AD-H (previamente usado con disolventes que contienen CF₃CO₂H) 4,6 x 250 mm; disolvente: C₆H₁₄-*i*PrOH (97:3 isocrático); temperatura: 20°C; caudal: 1 ml/min.; detección UV (210, 230 nm); muestra: 100 ml de disolución de la reacción disueltos con 1 ml de MeOH. Tiempos de retención: ácido (*S*): 19,3 min., ácido (*R*): 20,6 min., ácido enoico de partida: 22,1 min. Procedimiento de aislamiento: el MeOH se evaporó, después el producto de hidrogenación bruto se disolvió en *t*-BuOMe, y se extrajo con NaOH acuoso. La fase acuosa se añadió a una mezcla de HCl 1M y EtOAc. La fase acuosa se extrajo adicionalmente con EtOAc, y después los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera y se secaron (MgSO₄). El compuesto del título se aisló tras la filtración y la eliminación completa del disolvente.

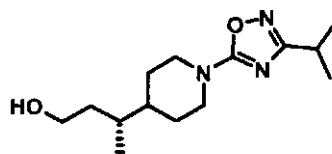
Preparación 10: 4-((*R*)-3-hidroxi-1-metilpropil)piperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo

Se añadió gota a gota durante 5 min. BH₃-THF (1M, 15,7 ml, 15,7 mmoles) a una disolución agitada de 4-((*R*)-2-carboxi-1-metiletil)piperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (**Preparación 9**, 1,70 g, 6,3 mmoles) en THF anhidro a 0°C. Después de 1 h, la reacción se trató con Et₂O, y después con HCl 2M. La capa orgánica se lavó con salmuera, antes de secarla (Na₂SO₄). La filtración, la evaporación del disolvente, y la cromatografía en columna (EtOAc-CH₂Cl₂, 1:3) proporcionaron el compuesto del título: RT = 3,17 min.; *m/z* (ES⁺) = 258. [M + H]⁺.

Preparación 11: 4-((*R*)-3-Hidroxi-1-metilpropil)piperidin-1-carbonitrilo

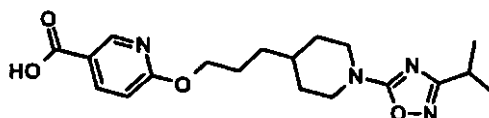
Una mezcla de 4-((*R*)-3-hidroxi-1-metilpropil)piperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (**Preparación 10**, 6,2 g, 14,9 mmoles) y HCl 4M en dioxano (10 ml) se agitó a temperatura ambiente. Después de 3 h, los disolventes se eliminaron a presión reducida para producir la sal de hidrocloreto de (*R*)-3-piperidin-4-il-butan-1-ol: δ_H ((CD₃)₂SO) 0,83 (d, 3H), 1,19-1,28 (m, 1H), 1,38-1,59 (m, 5H), 1,64-1,76 (m, 2H), 2,75-2,87 (m, 2H), 3,20-3,30 (m, 2H), 3,35-3,60 (m, 4H). Una mezcla agitada de este compuesto (0,93 g, 4,8 mmoles) y NaHCO₃ (1,61 g, 19,2 mmoles) en CH₂Cl₂-H₂O (4:1, 15 ml) a 0°C se trató con una disolución de BrCN (0,61 g, 5,8 mmoles) en CH₂Cl₂ (2 ml). La reacción se agitó a 20°C durante 2 h, antes de repartirla entre H₂O y CH₂Cl₂. La fase orgánica se separó y se secó (MgSO₄). La filtración, la evaporación del disolvente, y la cromatografía ultrarrápida (EtOAc) proporcionaron el compuesto del título: RT = 2,45 min.; *m/z* (ES⁺) = 183,1 [M + H]⁺.

Preparación 12: (*R*)-3-[1-(3-Isopropil-[1,2,4]oxadiazol-5-il)]piperidin-4-il]butan-1-ol



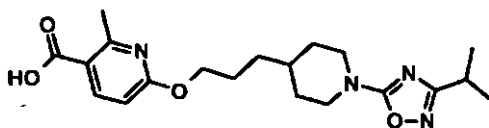
La condensación de 4-((*R*)-3-hidroxi-1-metilpropil)piperidin-1-carbonitrilo (Preparación 11, 0,53 g, 2,9 mmoles) con *N*-hidroxiisobutiramidina (0,36 g, 3,5 mmoles), empleando procedimientos similares a aquellos esquematizados en la Preparación 4, produjo el compuesto del título: RT = 2,92 min.; m/z (ES^+) = 268,1 [$M + H$]⁺.

Preparación 13: Ácido 6-{3-[1-(3-isopropil-[1,2,4]oxadiazol-5-il)]piperidin-4-il]propoxi}nicotínico



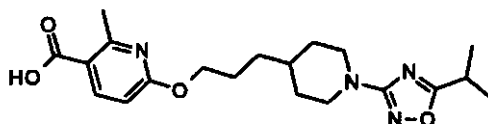
Se hizo reaccionar a 65°C 3-[1-(3-isopropil-[1,2,4]oxadiazol-5-il)]piperidin-4-il]propan-1-ol (**Preparación 4**, 1,83 g, 7,2 mmoles) con 6-cloronicotinonitrilo (1,00 g, 7,2 mmoles), empleando un procedimiento similar al que se describe en el **Ejemplo 1**, para producir 6-1{3-[1-(3-isopropil-[1,2,4]oxadiazol-5-il)]piperidin-4-il]propoxi}nicotinonitrilo: m/z (ES^+) = 356,0 [$M + H$]⁺. Una mezcla agitada de este compuesto (1,84 g, 5,2 mmoles) y NaOH 2M (15,5 ml, 31,0 mmoles) en EtOH (30 ml) se calentó durante 16 h a 70°C. El EtOH se eliminó a vacío, después la disolución se acidificó hasta pH 5 con HCl 2M. El precipitado producido se recogió y se secó a vacío para producir el compuesto del título: RT = 3,59 min.; m/z (ES^-) = 373,4 [$M - H$]⁻.

Preparación 14: Ácido 6-{3-[1-(3-isopropil-[1,2,4]oxadiazol-5-il)]piperidin-4-il]propoxi}-2-metilnicotínico



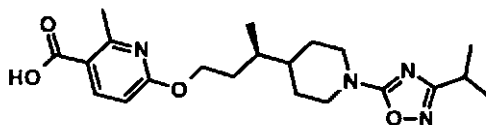
Una disolución agitada de 6-hidroxi-2-metilnicotinato de etilo (3,58 g, 19,8 mmoles), 3-[1-(3-isopropil[1,2,4]oxadiazol-5-il)]piperidin-4-il]propan-1-ol (**Preparación 4**, 5,00 g, 19,8 mmoles), y trifenilfosfina (6,74 g, 25,7 mmoles) en CH₂Cl₂, a 0°C, se trató gota a gota con azodicarboxilato de diisopropilo (5,04 ml, 25,7 mmoles). Después de 4 h, la reacción se concentró, antes de repartirla entre EtOAc (300 ml) y NaOH 1M (100 ml). La fase orgánica se lavó con NaOH 1M y salmuera, antes de secarla (MgSO₄). La disolución se filtró y se concentró, y después el resto se lavó con Et₂O-IH, antes de filtrarlo. El filtrado se concentró, y después el residuo se purificó mediante cromatografía en columna (EtOAc-IH, 1:4) para proporcionar 6-(3-[1-(3-isopropil-[1,2,4]oxadiazol-5-il)]piperidin-4-il]propoxi)-2-metilnicotinato de etilo: m/z (ES^+) = 417,0 [$M + H$]⁺. Una mezcla de este éster (5,51 g, 13,2 mmoles), LiOH•H₂O (5,55 g, 132,3 mmoles), MeOH (200 ml), y H₂O (20 ml) se agitó a 50°C durante 16 h. La reacción se concentró, antes de repartirla entre H₂O y EtOAc. La fase acuosa se aisló y se acidificó hasta pH 5 con HCl 2M, antes de extraerla con EtOAc (2x). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron (MgSO₄), se filtraron y se concentraron para producir el compuesto del título: RT = 3,77 min.; m/z (ES^+) = 389,0 [$M + H$]⁺.

Preparación 15: Ácido 6-(3-[1-(5-isopropil-[1,2,4]oxadiazol-3-il)]piperidin-4-il]propoxi)-2-metil-nicotínico



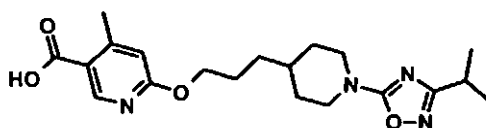
Empleando procedimientos similares a aquellos esquematizados en la **Preparación 14**, el 3-[1-(5-isopropil-[1,2,4]oxadiazol-3-il)]piperidin-4-il]propan-1-ol (**Preparación 3**) se convirtió en el compuesto del título: RT = 3,99 min.; m/z (ES^+) = 389,30 [$M + H$]⁺.

Preparación 16: Ácido 6-((*R*)-3-[1-(3-isopropil-[1,2,4]oxadiazol-5-il)piperidin-4-il]butoxi)-2-metilnicotínico



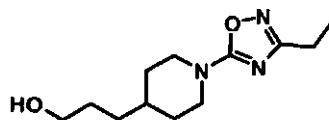
Preparado a partir de 6-hidroxi-2-metilnicotinato de etilo (3,58 g, 19,8 mmoles) y (*R*)-3-[1-(3-isopropil-[1,2,4]oxadiazol-5-il)piperidin-4-il]butan-1-ol (**Preparación 12**), empleándose procedimientos similares a aquellos esquematizados en la **Preparación 14**: RT = 3,94 min.; m/z (ES^-) = 401,4 [$M - H$].

Preparación 17: Ácido 6-{3-[1-(3-isopropil-[1,2,4]oxadiazol-5-il)piperidin-4-il]propoxi}-4-metilnicotínico



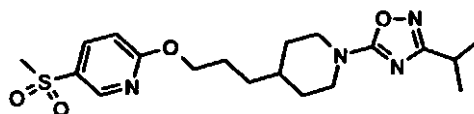
Se hizo reaccionar a 65°C 3-[1-(3-isopropil[1,2,4]oxadiazol-5-il)piperidin-4-il]propan-1-ol (**Preparación 4**, 3,06 g, 12,1 mmoles) con 5-bromo-2-cloro-4-metilpiridina (2,50 g, 12,1 mmoles), empleando un procedimiento similar al que se describe en el **Ejemplo 1**, para producir 5-bromo-2-(3-[1-(3-isopropil-[1,2,4]oxadiazol-5-il)piperidin-4-il]propoxi)-4-metilpiridina: m/z (ES^+) = 422,9 [$M + H$]⁺. Una disolución de este bromuro (500 mg, 1,2 mmoles) en THF anhidro (1,5 ml) se añadió a una disolución agitada de *n*BuLi (1,6 M en hexanos, 1,5 ml, 2,4 mmoles) en THF anhidro (1,5 ml) a -78°C. Después de 1 h, se burbujeó CO₂ (g) a través de la mezcla, mientras la mezcla se dejó calentar hasta la temperatura ambiente. Los disolventes se eliminaron a presión reducida, y después el resto se repartió entre H₂O y EtOAc. La fase acuosa se acidificó hasta pH 2 con HCl 2M, antes de extraerla varias veces con EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se secaron, se filtraron, y se concentraron, y después el residuo se purificó mediante cromatografía en columna en CH₂Cl₂-MeOH-AcOH (97,7:2,0:0,3) para producir el compuesto del título: m/z (ES^+) = 389,0 [$M + H$]⁺.

Preparación 18: 3-[1-(3-Etil-[1,2,4]oxadiazol-5-il)piperidin-4-il]propan-1-ol



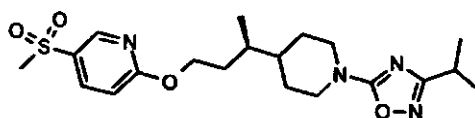
Preparado empleando un procedimiento similar al esquematizado en la **Preparación 4**: m/z (ES^+) = 240,15 [$M + H$]⁺.

Ejemplo 1: 2-{3-[1-(3-Isopropil[1,2,4]oxadiazol-5-il)piperidin-4-il]propoxi}-5-metanosulfonilpiridina



A una disolución de 3-[1-(3-isopropil[1,2,4]oxadiazol-5-il)piperidin-4-il]propan-1-ol (**Preparación 4**, 159 mg, 0,628 mmoles) en THF anhidro (5 ml) en argón se añadió hidruro de sodio (dispersión al 60% en aceite mineral, 34,3 mg, 0,857 mmoles), y la mezcla se agitó durante 15 min. antes de añadirle 2-fluoro-5-metanosulfonilpiridina (**Preparación 6**, 100 mg, 0,571 mmoles). La mezcla de reacción se agitó durante 20 h, antes de eliminar el disolvente a vacío, y el residuo se repartió entre CH₂Cl₂ (30 ml) y agua (30 ml), y la fase acuosa se volvió a extraer con CH₂Cl₂ (30 ml). Los extractos orgánicos se recogieron a través de una fritada hidrófoba, y el disolvente se eliminó a vacío para dar un residuo que se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (SiO₂) eluyendo con 40% de EtOAc y 60% de 1H para producir el compuesto del título. RT = 3,74 min.; m/z (ES^+) = 408,93 [$M+H$]⁺.

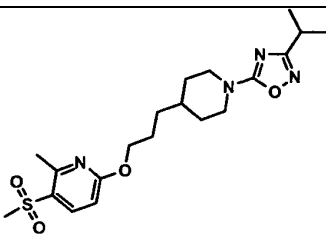
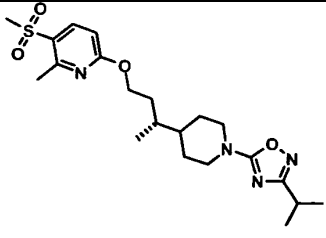
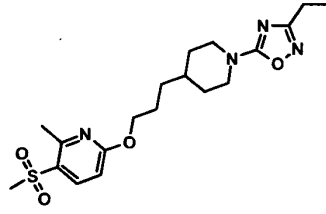
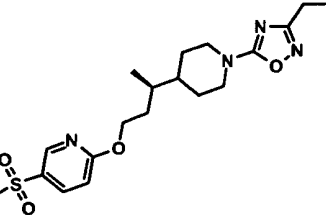
Ejemplo 2: 2-((*R*)-3-[1-(3-Isopropil-[1,2,4]oxadiazol-5-il)piperidin-4-il]butoxi)-5-metanosulfonilpiridina



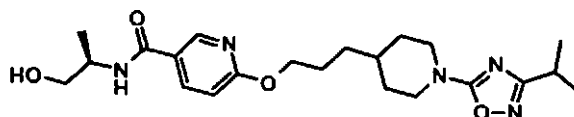
Se hizo reaccionar (*R*)-3-[1-(3-Isopropil-[1,2,4]oxadiazol-5-il)piperidin-4-il]butan-1-ol (**Preparación 12**) con 2-fluoro-5-metanosulfonilpiridina (**Preparación 6**) para producir el compuesto del título: δ H (CDCl₃) 0,99 (d, 3H), 1,31 (d, 6H), 1,33-1,80 (m, 7H), 1,92-2,01 (m, 1H), 2,92 (sept, 1H), 2,99-3,10 (m, 2H), 3,11 (s, 3H), 4,19-4,25 (m, 2H), 4,40-4,56 (m, 2H), 6,85 (d, 1H), 8,04 (dd, 1H), 8,76 (dd, 1H); RT = 3,77 min.; m/z (ES⁺) = 422,94 [M+H]⁺.

- 5 El procedimiento esquematizado en el **Ejemplo 1** se utilizó también para preparar los compuestos mostrados en la **Tabla 1** a partir del alcohol apropiado y 2-fluoropiridina.

Tabla 1

Ej.	Estructura	Nombre	Espectro
3		6-{3-[1-(3-Isopropil-[1,2,4]oxadiazol-5-il)-piperidin-4-il]propoxi}-3-metanosulfonil-2-metilpiridina	RT = 3,87 min; m/z (ES ⁺) = 423,22 [M + H] ⁺
4		6-((<i>R</i>)-3-[1-(3-Isopropil-[1,2,4]oxadiazol-5-il)-piperidin-4-il]butoxi)-3-metanosulfonil-2-metilpiridina	RT = 4,01 min; m/z (ES ⁺) = 437,24 [M + H] ⁺
5		6-{3-[1-(3-Etil-[1,2,4]oxadiazol-5-il)-piperidin-4-il]propoxi}-3-metanosulfonil-2-metilpiridina	RT = 3,68 min; m/z (ES ⁺) = 409,44 [M + H] ⁺
6		5-Metanosulfonil-2-((<i>R</i>)-3-[1-(3-propil-[1,2,4]oxadiazol-5-il)piperidin-4-il]butoxi)piridina	RT = 3,84 min; m/z (ES ⁺) = 422,96 [M + H] ⁺

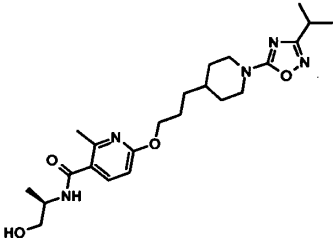
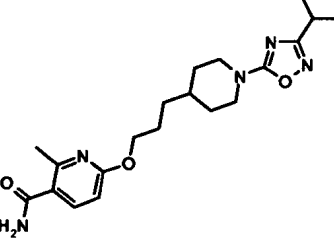
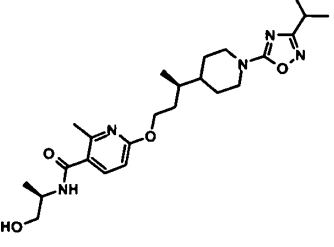
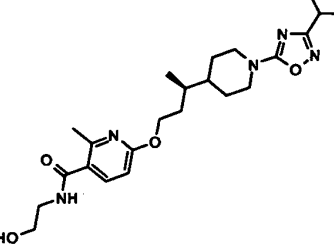
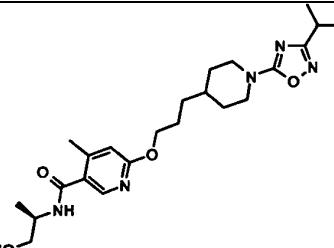
Ejemplo 7: *N*-((*R*)-2-Hidroxi-1-metiletil)-6-{3-[1-(3-isopropil-[1,2,4]oxadiazol-5-il)-piperidin-4-il]propoxi}nicotinamida

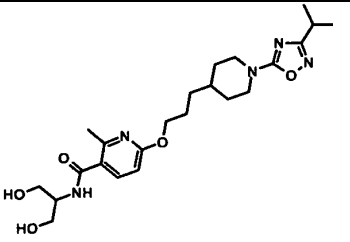
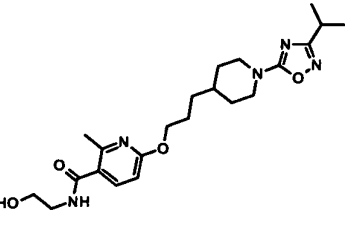
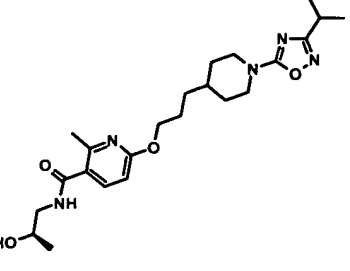
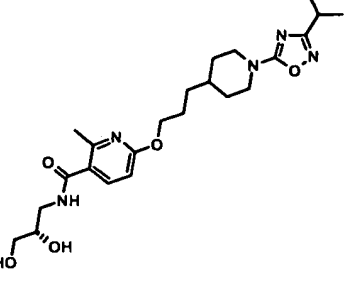
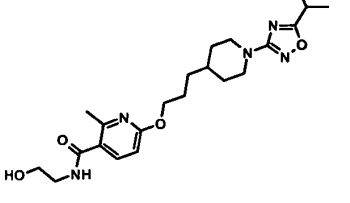
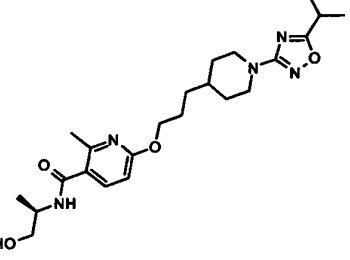


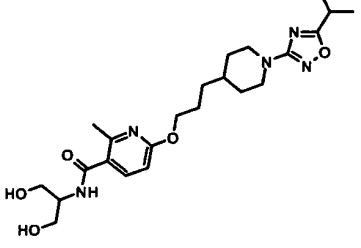
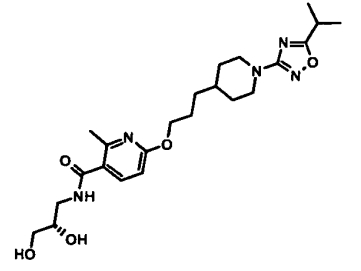
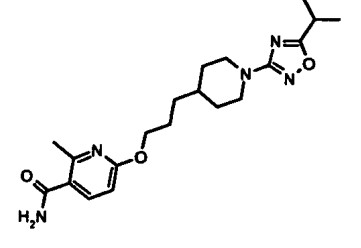
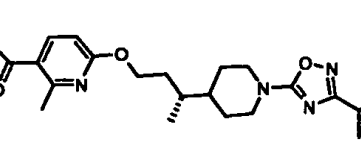
- 10 Una disolución de ácido 6-{3-[1-(3-isopropil-[1,2,4]oxadiazol-5-il)piperidin-4-il]-propoxi}nicotínico (**Preparación 13**, 100 mg, 270 μ moles), EDCI (61 mg, 320 μ moles), HOBt (44 mg, 320 μ moles) y DIPEA (141 μ l, 810 μ moles) en DMF anhidra (3 ml) se agitó durante 30 min. Se añadió (*R*)-2-aminopropan-1-ol (21 μ l, 270 μ moles), y después la agitación se continuó durante 16 h. La mezcla de reacción se repartió entre H₂O (100 ml) y EtOAc (75 ml). La fase acuosa se extrajo adicionalmente con EtOAc (75 ml), y después los extractos orgánicos combinados se lavaron con NaHCO₃ acuoso saturado (10 ml), antes de secarlos (MgSO₄). La filtración, la evaporación del disolvente y la purificación mediante RP-HPLC produjo el compuesto del título: RT = 3,41 min.; m/z (ES⁺) = 431,98 [M+H]⁺.
- 15

Las amidas listadas en la **Tabla 2** se sintetizaron mediante condensación del ácido apropiado con la amina apropiada, empleando procedimientos similares a aquellos esquematizados en el **Ejemplo 7**.

Tabla 2

Ej.	Estructura	Nombre	Espectro
8		<i>N</i> -((<i>R</i>)-2-Hidroxi-1-metiletil)-6-{3-[1-(3-isopropil-[1,2,4]oxadiazol-5-il)piperidin-4-il]propoxi}-2-metilnicotinamida	δ_H (CDCl ₃) 1,23-1,38 (m, 11H), 1,42-1,62 (m, 3H), 1,80-1,88 (m, 4H), 2,46 (t, 1H), 2,61 (s, 3H), 2,93 (sept, 1H), 3,02-3,12 (m, 2H), 3,63-3,71 (m, 1H), 3,80-3,86 (m, 1H), 4,14-4,20 (m, 2H), 4,25-4,38 (m, 3H), 5,87-5,92 (br m, 1H), 6,58 (d, 1H), 7,64 (d, 1H); RT = 3,24 min; m/z (ES ⁺) = 446,01 [<i>M</i> + H] ⁺
9		6-{3-[1-(3-Isopropil-[1,2,4]oxadiazol-5-il)-piperidin-4-il]propoxi}-2-metilnicotinamida	RT = 3,27 min; m/z (ES ⁺) = 388,02 [<i>M</i> + H] ⁺
10		<i>N</i> -((<i>R</i>)-2-Hidroxi-1-metil-etil)-6-((<i>R</i>)-3-[1-(3-isopropil-[1,2,4]oxadiazol-5-il)piperidin-4-il]butoxi)-2-metilnicotinamida	RT = 3,47 min; m/z (ES ⁺) = 460,01 [<i>M</i> + H] ⁺
11		<i>N</i> -(2-Hidroxi-etil)-6-((<i>R</i>)-3-[1-(3-isopropil-[1,2,4]oxadiazol-5-il)-piperidin-4-il]butoxi)-2-metilnicotinamida	RT = 3,38 min; m/z (ES ⁺) = 446,00 [<i>M</i> +H] ⁺
12		<i>N</i> -((<i>R</i>)-2-Hidroxi-1-metil-etil)-6-{3-[1-(3-isopropil-[1,2,4]oxadiazol-5-il)-piperidin-4-il]propoxi}-4-metilnicotinamida	RT = 3,37 min; m/z (ES ⁺) = 445,97 [<i>M</i> + H] ⁺

13		<i>N</i> -(2-Hidroxi-1-hidroximetilel)-6-{3-[1-(3-isopropil-[1,2,4]oxadiazol-5-il)-piperidin-4-il]propoxi}-2-metilnicotinamida	RT = 3,12 min; m/z (ES^+) = 462,21 [$M + H$] ⁺
14		<i>N</i> -(2-Hidroxietyl)-6-{3-[1-(3-isopropil-[1,2,4]oxadiazol-5-il)-piperidin-4-il]propoxi}-2-metilnicotinamida	RT = 3,41 min; m/z (ES^+) = 432,33 [$M + H$] ⁺
15		<i>N</i> -((<i>R</i>)-2-Hidroxiopropil)-6-{3-[1-(3-isopropil-[1,2,4]oxadiazol-5-il)-piperidin-4-il]propoxi}-2-metilnicotinamida	RT = 3,27 min; m/z (ES^+) = 446,29 [$M + H$] ⁺
16		<i>N</i> -((<i>S</i>)-2,3-Dihidroxiopropil)-6-{3-[1-(3-isopropil-[1,2,4]oxadiazol-5-il)-piperidin-4-il]propoxi}-2-metilnicotinamida	RT = 3,09 min, m/z (ES^+) = 462,29 [$M + H$] ⁺
17		<i>N</i> -(2-Hidroxietyl)-6-{3-[1-(5-isopropil-[1,2,4]oxadiazol-3-il)-piperidin-4-il]propoxi}-2-metilnicotinamida	RT = 3,39 min; m/z (ES^+) = 432,32 [$M + H$] ⁺
18		<i>N</i> -((<i>R</i>)-2-Hidroxi-1-metil-etil)-6-{3-[1-(5-isopropil-[1,2,4]oxadiazol-3-il)-piperidin-4-il]propoxi}-2-metilnicotinamida	RT = 3,49 min; m/z (ES^+) = 446,36 [$M + H$] ⁺

19		<i>N</i> -(2-Hidroxi-1-hidroximetil)etil)-6-{3-[1-(5-isopropil-[1,2,4]oxadiazol-3-il)]piperidin-4-il]propoxi}-2-metilnicotinamida	RT = 3,24 min; m/z (ES ⁺) = 462,34 [M + H] ⁺
20		<i>N</i> -((<i>S</i>)-2,3-Dihidroxi)propil)-6-{3-[1-(5-isopropil-[1,2,4]oxadiazol-3-il)]piperidin-4-il]propoxi}-2-metilnicotinamida	RT = 3,28 min; m/z (ES ⁺) = 462,36 [M + H] ⁺
21		6-{3-[1-(5-Isopropil-[1,2,4]oxadiazol-3-il)]piperidin-4-il]propoxil}-2-metilnicotinamida	RT = 3,56 min; m/z (ES ⁺) = 388,29 [M + H] ⁺
22		6-((<i>R</i>)-3-[1-(3-Isopropil-[1,2,4]oxadiazol-5-il)]piperidin-4-il]butoxi)-2-metilnicotinamida	δ_H (CDCl ₃) 1,20-1,80 (m, 14H), 1,87-1,98 (m, 1H), 2,66 (s, 3H), 2,85-3,08 (m, 3H), 3,51 (q, 2H), 4,18-4,23 (m, 2H), 4,35-4,47 (m, 2H), 5,75-5,90 (br s, 2H), 6,58 (d, 1H), 7,74 (d, 1H); RT = 3,47 min; m/z (ES ⁺) = 402,21 [M+H] ⁺

La actividad biológica de los compuestos de la invención se puede ensayar en los siguientes sistemas de ensayo:

Ensayo Informador de Levadura

- Los ensayos informadores a base de células de levadura se han descrito previamente en la bibliografía (por ejemplo, véanse Miret J. J. et al, 2002, J. Biol. Chem., 277:6881-6887; Campbell R.M. et al, 1999, Bioorg. Med. Chem. Lett., 9:2413-2418; King K. et al, 1990, Science, 250:121-123); documento WO 99/14344; documento WO 00/12704; y documento US 6.100.042). De forma breve, las células de levadura se han manipulado mediante ingeniería de forma que se ha suprimido la proteína G-alfa (GPA1) de levadura endógena, y se ha sustituido por quimeras de proteínas G construidas usando múltiples técnicas. Adicionalmente, se ha suprimido el GPCR Ste3 de células alfa de levadura endógena para permitir una expresión homóloga de un GPCR de mamífero de elección. En la levadura, los elementos de la ruta de transducción de señalización de feromonas, que están conservados en células eucariotas (por ejemplo, la ruta de proteína cinasa activada por mitógeno), conduce la expresión de Fus1. Colocando a β -galactosidasa (LacZ) bajo el control del promotor Fus1 (Fus 1 p), se ha desarrollado un sistema mediante el cual la activación del receptor conduce a una lectura enzimática.
- Células de levadura se transformaron mediante una adaptación del método de acetato de litio descrito por Agatep et al. (Agatep, R. et al., 1998, Transformation of *Saccharomyces cerevisiae* by the lithium acetate/single-stranded carrier DNA/polyethylene glycol (LiAc/ss-DNA/PEG) protocol. Technical Tips Online, Trends Journals, Elsevier). De forma breve, se hicieron crecer células de levadura toda la noche en placas de triptona de levadura (YT). Se pipeteó en un tubo Eppendorf ADN monocatenario portador (10 μ g), 2 μ g de cada uno de dos plásmidos informadores Fus1p-LacZ (uno con un marcador de selección URA, y otro con TRP), 2 μ g de GPR119 (receptor humano o de ratón) en vector de expresión de levadura (2 μ g origen de replicación) y un tampón de acetato de litio/polietilenglicol/TE. El plásmido de expresión de levadura que contiene el control de receptor/sin receptor tiene un marcador LEU. Las células de levadura se inocularon en esta mezcla, y la reacción transcurre a 30°C durante 60 minutos. Las células de levadura se sometieron entonces a un choque térmico a 42°C durante 15 minutos. Las

células se lavaron entonces y se extendieron sobre placas de selección. Las placas de selección son medio de levadura definido sintético menos LEU, URA y TRP (SD-LUT). Tras incubar a 30°C durante 2-3 días, las colonias que crecen en las placas de selección se ensayaron entonces en el ensayo de LacZ.

5 A fin de realizar los ensayos enzimáticos fluorométricos para β -galactosidasa, las células de levadura que poseen el receptor GPR119 humano o de ratón se hicieron crecer toda la noche en medio líquido SD-LUT hasta una concentración insaturada (es decir, las células todavía estaban dividiéndose y no habían alcanzado aún la fase estacionaria). Se diluyeron en medio reciente hasta una concentración óptima de ensayo, y 90 μ l de células de levadura se añadieron a placas de poliestireno negras de 96 pocillos (Costar). Los compuestos, disueltos en DMSO y diluidos en una disolución de DMSO al 10% hasta una concentración 10X, se añadieron a las placas, y las placas se colocaron a 30°C durante 4 h. Después de 4 h, se añadió a cada pocillo el sustrato para la β -galactosidasa. En estos experimentos, se usó fluorescein-di-(β -D-galactopiranosido) (FDG), un sustrato para la enzima que libera fluoresceína, que permite una lectura fluorométrica. Se añadieron 20 μ l por pocillo de 500 μ M de FDG/2,5% de Triton X100 (el detergente fue necesario para hacer que las células fuesen permeables). Tras la incubación de las células con el sustrato durante 60 minutos, se añadieron 20 μ l por pocillo de carbonato sódico 1M para terminar la reacción y potenciar la señal fluorescente. Las placas se leyeron entonces en un fluorímetro a 485/535 nm.

Los compuestos de la invención dieron un incremento en la señal fluorescente de al menos ~1,5 veces el de la señal del fondo (es decir, la señal obtenida en presencia de DMSO al 1% sin compuesto). Se pueden preferir compuestos de la invención que den un incremento de al menos 5 veces.

Ensayo de cAMP

20 Se obtuvo una estirpe celular estable que expresa GPR119 humana o recombinante, y esta estirpe celular se usó para investigar el efecto de los compuestos de la invención sobre niveles intracelulares de AMP cíclico (cAMP). Las monocapas celulares se lavaron con disolución salina tamponada con fosfato, y se estimularon a 37°C durante 30 minutos con diversas concentraciones de compuesto en tampón de estimulación más 1% de DMSO. Las células se lisaron entonces, y el contenido de cAMP se determinó usando el kit de cAMP de Perkin Elmer AlphaScreen™ (ensayo homogéneo de proximidad luminiscente amplificado). Los tampones y condiciones de ensayo fueron como se describe en el protocolo del fabricante.

Estudio de alimentación in vivo

El efecto de los compuestos de la invención sobre el peso corporal y la ingesta de alimento y agua se puede examinar en ratas macho Sprague-Dawley alimentadas libremente mantenidas en un ciclo de luz de fase inversa. 30 Los compuestos de ensayo y los compuestos de referencia se dosifican mediante vías apropiadas de administración (por ejemplo intraperitoneal u oralmente), y las medidas se realizan durante las siguientes 24 h. Las ratas se enjaulan individualmente en jaulas de polipropileno con suelos de rejilla metálica a una temperatura de $21 \pm 4^\circ\text{C}$ y $55 \pm 20\%$ de humedad. Se colocan bandejas de polipropileno con almohadillas de jaula debajo de cada jaula para detectar cualquier pérdida de alimento. Los animales se mantienen en un ciclo de luz-oscuridad de fase inversa (las luces se apagan durante 8 h desde 09:30-17:30 h), durante cuyo tiempo la habitación se ilumina mediante luz roja. A los animales se les da acceso libre a una dieta en polvo estándar para ratas y agua del grifo durante un período de aclimatización de dos semanas. La dieta está contenida en tarros de alimentación de vidrio con tapas de aluminio. Cada tapa tiene un orificio de 3-4 cm en él para permitir el acceso al alimento. Los animales, los tarros de alimentación y las botellas de agua se pesan (hasta el 0,1 g más cercano) al comienzo del período de oscuridad. Los tarros de alimentación y las botellas de agua se miden subsiguientemente 1, 2, 4, 6 y 24 h después de que a los animales se les dosifica un compuesto de la invención, y cualesquiera diferencias significativas entre los grupos de tratamiento en el valor inicial se comparan con controles tratados con vehículo.

Efectos antidiabéticos de los compuestos de la invención en un modelo in vitro de células beta pancreáticas (HIT-T15)

45 Cultivo Celular

Las células HIT-T15 (pasada 60) se pueden obtener de ATCC, y se cultivan en medio RPMI1640 suplementado con 10% de suero fetal de ternera y selenito sódico 30 nM. Todos los experimentos se deberían de llevar a cabo con células con una pasada menor que 70, según la bibliografía, que describe las propiedades alteradas de esta estirpe celular en números de pasada por encima de 81 (Zhang HJ, Walseth TF, Robertson RP. Insulin secretion and cAMP metabolism in HIT cells. Reciprocal and serial passage-dependent relationships. Diabetes. 1989 Jan; 38(1): 44-8).

Ensayo de cAMP

55 Células HIT-T15 se colocan en medio de cultivo estándar en placas de 96 pocillos a 100.000 células/0,1 ml/pocillo, y se cultivan durante 24 h y entonces se desecha el medio. Las células se incuban durante 15 minutos a temperatura ambiente con 100 μ l de tampón de estimulación (disolución salina tamponada de Hanks, 5 mM de HEPES, 0,5 mM de IBMX, 0,1% de BSA, pH 7,4). Éste se desecha y se sustituye por diluciones de compuesto a lo largo del intervalo 0,001, 0,003, 0,01, 0,03, 0,1, 0,3, 1, 3, 10, 30 μ M en tampón de estimulación en presencia de 0,5% de DMSO. Las

células se incuban a temperatura ambiente durante 30 minutos. Después, se añaden 75 μ l de tampón de lisis (5 mM de HEPES, 0,3% de Tween-20, 0,1% de BSA, pH 7,4) por pocillo, y la placa se agita a 900 rpm durante 20 minutos. La materia en partículas se elimina mediante centrifugación a 3000 rpm durante 5 minutos, después las muestras se transfieren por duplicado a placas de 384 pocillos, y son procesadas siguiendo las instrucciones del kit de ensayo de cAMP de Perkin Elmer AlphaScreen. De forma breve, se establecen reacciones de 25 μ l que contienen 8 μ l de muestra, 5 μ l de mezcla de perlas aceptoras y 12 μ l de mezcla de detección, de forma que la concentración de los componentes de la reacción final es la misma como se establece en las instrucciones del kit. Las reacciones se incuban a temperatura ambiente durante 150 minutos, y la placa se lee usando un instrumento Packard Fusion. Las medidas para cAMP se comparan con una curva patrón de cantidades conocidas de Camp (0,01, 0,03, 0,1, 0,3, 1, 3, 10, 30, 100, 300, 1000 nM), para convertir las lecturas en cantidades de cAMP absolutas. Los datos se analizan usando el software XLfit 3.

Se encontró que los compuestos representativos de la invención incrementan cAMP a una EC50 de menos de 10 mM. Se pueden preferir compuestos que muestran una EC50 de menos de 1 mM en el ensayo de cAMP.

Ensayo de secreción de insulina

Células HIT-T15 se colocan en medio de cultivo estándar en placas de 12 pocillos a 10^6 células/1 ml/pocillo, y se cultivan durante 3 días y después el medio se desecha. Las células se lavan x 2 con tampón de Krebs-Ringer (KRB) suplementado que contiene 119 mM de NaCl, 4,74 mM de KCl, 2,54 mM de CaCl_2 , 1,19 mM de MgSO_4 , 1,19 mM de KH_2PO_4 , 25 mM de NaHCO_3 , 10 mM de HEPES a pH 7,4 y 0,1% de seroalbúmina bovina. Las células se incuban con 1 ml de KRB a 37°C durante 30 minutos, que entonces se desecha. A esto le sigue una segunda incubación con KRB durante 30 minutos, que se recoge y se usa para medir los niveles de secreción de insulina basal para cada pocillo. Entonces se añaden diluciones de compuesto (0, 0,1, 0,3, 1, 3, 10 μ M) por duplicado a los pocillos en 1 ml de KRB, suplementado con 5,6 mM de glucosa. Después de una incubación de 30 minutos a 37°C, las muestras se retiran para la determinación de los niveles de insulina. La medida de insulina se realiza usando el kit de ELISA de insulina de rata Mercodia, siguiendo las instrucciones del fabricante, con una curva patrón de concentraciones conocidas de insulina. Para cada pocillo, los niveles de insulina se restan del nivel de secreción basal procedente de la preincubación en ausencia de glucosa. Los datos se analizan usando el software XLfit 3.

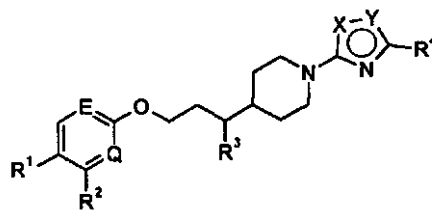
Ensayos de tolerancia a glucosa oral

Los efectos de los compuestos de la invención en la tolerancia a la glucosa (Glc) oral se evaluaron en ratas macho Sprague-Dawley. El alimento se retiró 16 h antes de la administración de Glc, y se mantuvo sin reponer durante el estudio. Las ratas tuvieron acceso libre a agua durante el estudio. Se hizo un corte en las colas de los animales, se retiró entonces sangre (1 gota) para la medida de los niveles de Glc basales 60 minutos antes de la administración de la carga de Glc. Después, las ratas se pesaron y se les dosificó oralmente compuesto de ensayo o vehículo (hidroxipropil- β -ciclodextrina acuosa al 20%) 45 minutos antes de la eliminación de una muestra de sangre adicional y del tratamiento con la carga de Glc (2 g kg^{-1} p.o.). Se tomaron entonces muestras de sangre de la punta de corte de la cola 5, 15, 30, 60, 120 y 180 minutos después de la administración de Glc. Los niveles de glucemia se midieron justo después de la recogida usando un glucosímetro comercialmente disponible (OneTouch® Ultra™ de Lifescan). Los compuestos representativos de la invención redujeron estadísticamente la excursión de Glc a dosis de ≤ 10 mg kg^{-1} .

Los efectos de los compuestos de la invención sobre la tolerancia a la glucosa (Glc) oral también se pueden evaluar en ratones C57BU6 machos o ratones *ob/ob* machos. El alimento se retiró 5 h antes de la administración de Glc, y se mantuvo sin reponer durante todo el estudio. Los ratones tuvieron acceso libre a agua durante el estudio. Se hizo un corte en las colas de los animales, después se retiró sangre (20 μ l) para la medida de los niveles de Glc basales 45 minutos antes de la administración de la carga de Glc. Después, los ratones se pesaron y se les dosificó oralmente compuesto de ensayo o vehículo (hidroxipropil- β -ciclodextrina acuosa al 20% o Gelucire 44/14 acuosa al 25%) 30 minutos antes de la retirada de una muestra de sangre adicional (20 μ l) y del tratamiento con la carga de Glc (2-5 g kg^{-1} p.o.). Entonces se tomaron muestras de sangre (20 μ l) 25, 50, 80, 120 y 180 minutos después de la administración de Glc. Las muestras de sangre de 20 μ l para la medida de los niveles de Glc se toman de la punta de corte de la cola en micropipetas desechables (Dade Diagnostics Inc., Puerto Rico), y la muestra se añade a 480 μ l de reactivo de hemólisis. Entonces se añaden alícuotas duplicadas de 20 μ l de la sangre hemolizada diluida a 180 μ l de reactivo de glucosa de Trinder (método colorimétrico enzimático (Trinder) de Sigma) en una placa de ensayo de 96 pocillos. Después de mezclar, las muestras se dejan a rt durante 30 minutos antes de ser leídas frente a patrones de Glc (conjunto estándar combinado de glucosa/nitrógeno de urea de Sigma).

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



(I)

en la que uno de X e Y es O y el otro es N;

5 uno de E y Q es N y el otro es CH;

R¹ es SO₂R⁵ o -CONHR⁶;

R² es hidrógeno o metilo;

R³ es hidrógeno o metilo;

R⁴ es alquilo de C₂₋₅;

10 R⁵ es alquilo de C₁₋₃; y

R⁶ es hidrógeno, alquilo de C₁₋₃, o alquilo de C₂₋₃ sustituido con hidroxilo.

2. Un compuesto según la reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que X es O.

3. Un compuesto según la reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que Y es O.

15 4. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que R¹ es SO₂R⁵.

5. Un compuesto según la reivindicación 4, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que R¹ es SO₂CH₃.

6. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que R¹ es -CONHR⁶.

20 7. Un compuesto según la reivindicación 6, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que R⁶ es alquilo de C₁₋₃ o alquilo de C₂₋₃ sustituido con hidroxilo.

8. Un compuesto según la reivindicación 7, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que R⁶ es alquilo de C₂₋₃ sustituido con hidroxilo.

25 9. Un compuesto según la reivindicación 8, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que R⁶ es 2-hidroxietilo o 2-hidroxil-1-metiletilo.

10. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que R³ es hidrógeno.

11. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que R³ es metilo.

30 12. Un compuesto según la reivindicación 11, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que R³ es metilo, y el estereocentro producido tiene la configuración (R).

13. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que R⁴ es alquilo de C₃₋₄.

35 14. Un compuesto según la reivindicación 13, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que R⁴ es isopropilo.

15. N-((R)-2-Hidroxil-1-metiletil)-6-{3-[1-(3-isopropil-[1,2,4]oxadiazol-5-il)piperidin-4-il]propoxil}-2-metilnicotinamida; o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

16. 6-{3-[1-(3-Isopropil-[1,2,4]oxadiazol-5-il)-piperidin-4-il]propoxi}-2-metilnicotinamida; o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.
17. *N*-((*R*)-2-Hidroxi-1-metil-etil)-6-{{(*R*)-3-[1-(3-isopropil-[1,2,4]oxadiazol-5-il)piperidin-4-il]butoxi}-2-metilnicotinamida; o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.
- 5 18. *N*-(2-Hidroxi-etil)-6-{{(*R*)-3-[1-(3-isopropil-[1,2,4]oxadiazol-5-il)-piperidin-4-il]butoxi}-2-metilnicotinamida; o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.
19. *N*-((*R*)-2-Hidroxi-1-metil-etil)-6-{3-[1-(3-isopropil-[1,2,4]oxadiazol-5-il)-piperidin-4-il]propoxi}-4-metilnicotinamida; o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.
- 10 20. *N*-(2-Hidroxi-1-hidroximetiletil)-6-{3-[1-(3-isopropil-[1,2,4]oxadiazol-5-il)-piperidin-4-il]propoxi}-2-metilnicotinamida; o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.
21. *N*-(2-Hidroxi-etil)-6-{3-[1-(3-isopropil-[1,2,4]oxadiazol-5-il)piperidin-4-il]propoxi}-2-metilnicotinamida; o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.
22. *N*-((*R*)-2-Hidroxi-propil)-6-{3-[1-(3-isopropil-[1,2,4]oxadiazol-5-il)-piperidin-4-il]propoxi}-2-metilnicotinamida; o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.
- 15 23. *N*-((*S*)-2,3-Dihidroxi-propil)-6-{3-[1-(3-isopropil-[1,2,4]oxadiazol-5-il)-piperidin-4-il]propoxi}-2-metilnicotinamida; o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.
24. *N*-(2-Hidroxi-etil)-6-{3-[1-(5-isopropil-[1,2,4]oxadiazol-3-il)piperidin-4-il]propoxi}-2-metilnicotinamida; o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.
- 20 25. *N*-((*R*)-2-Hidroxi-1-metiletil)-6-{3-[1-(5-isopropil-[1,2,4]oxadiazol-3-il)-piperidin-4-il]propoxi}-2-metilnicotinamida; o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.
26. *N*-(2-Hidroxi-1-hidroximetiletil)-6-{3-[1-(5-isopropil-[1,2,4]oxadiazol-3-il)piperidin-4-il]propoxi}-2-metilnicotinamida; o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.
27. *N*-((*S*)-2,3-Dihidroxi-propil)-6-{3-[1-(5-isopropil-[1,2,4]oxadiazol-3-il)-piperidin-4-il]propoxi}-2-metilnicotinamida; o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.
- 25 28. 6-{3-[1-(5-Isopropil-[1,2,4]oxadiazol-3-il)-piperidin-4-il]propoxi}-2-metilnicotinamida; o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.
29. 6-{{(*R*)-3-[1-(3-Isopropil-[1,2,4]oxadiazol-5-il)piperidin-4-il]butoxi}-2-metilnicotinamida; o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.
- 30 30. 2-{3-[1-(3-Isopropil[1,2,4]oxadiazol-5-il)piperidin-4-il]propoxi}-5-metanosulfonilpiridina o 2-{{(*R*)-3-[1-(3-isopropil-[1,2,4]oxadiazol-5-il)piperidin-4-il]butoxi}-5-metanosulfonilpiridina; o una sal farmacéuticamente aceptable de las mismas.
31. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 30, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
- 35 32. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 30, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en la regulación de la saciedad.
33. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 30, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en el tratamiento de obesidad.
34. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 30, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en el tratamiento de diabetes.
- 40 35. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 30, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en el tratamiento de síndrome metabólico (síndrome X), tolerancia alterada a la glucosa, hiperlipidemia, hipertrigliceridemia, hipercolesterolemia, niveles bajos de HDL, o hipertensión.
36. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 30, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso como un medicamento.
- 45 37. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 30, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en la fabricación de un medicamento para el tratamiento o prevención de una enfermedad o afección según se define en una cualquiera de las reivindicaciones 32 a 35.