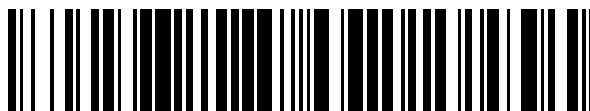


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 388 929**

51 Int. Cl.:
C07D 207/26 (2006.01)
C07D 405/04 (2006.01)
C07D 409/04 (2006.01)
A61K 31/4015 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **06737027 .0**
96 Fecha de presentación: **06.03.2006**
97 Número de publicación de la solicitud: **1856042**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **21.11.2007**

54 Título: **Gamma-lactamas sustituidas como agentes terapéuticos**

30 Prioridad:
10.03.2005 US 660748 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
19.10.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
19.10.2012

73 Titular/es:
**ALLERGAN, INC.
2525 DUPONT DRIVE
IRVINE CA 92612, US**

72 Inventor/es:
**OLD, David, W. y
DINH, Danny, T.**

74 Agente/Representante:
Carpintero López, Mario

ES 2 388 929 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

Gamma-lactamas sustituidas como agentes terapéuticos.

Descripción de la técnica relacionada

5 Los agentes hipotensores oculares son útiles en el tratamiento de una serie de varios estados hipertensores oculares, tal como episodios hipertensores oculares de post-trabeculectomía láser y post-quirúrgicos, glaucoma y como coadyuvantes pre-quirúrgicos.

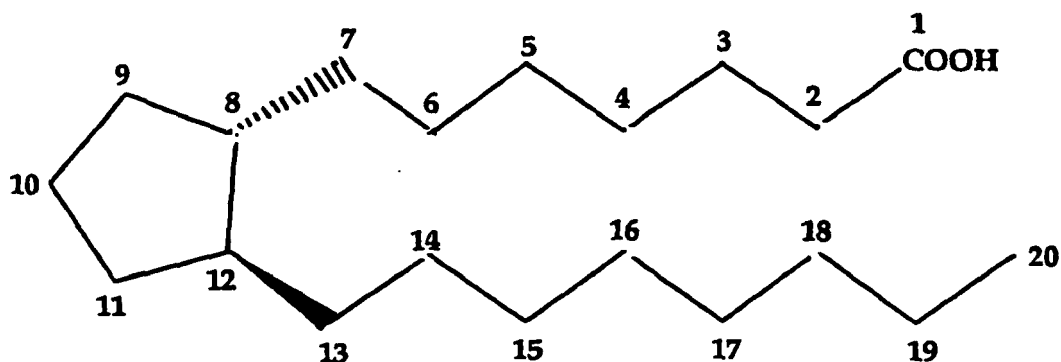
10 El glaucoma es una enfermedad del ojo que se caracteriza por una presión intraocular aumentada. En función de su etiología, el glaucoma se ha clasificado como primario o secundario. Por ejemplo, el glaucoma primario en adultos (glaucoma congénito) puede ser o bien de ángulo abierto o agudo o por cierre angular crónico. El glaucoma secundario resulta de enfermedades oculares preexistentes tales como uveítis, tumor intraocular o una catarata ampliada.

15 Las causas subyacentes del glaucoma primario no se conocen aún. La tensión intraocular aumentada se debe a la obstrucción de flujo de salida de humor acuoso. En el glaucoma de ángulo abierto crónico, la cámara anterior y sus estructuras anatómicas parecen normales, pero está impedido el drenaje del humor acuoso. En el glaucoma por cierre angular crónico o agudo, la cámara anterior es poco profunda, el ángulo de filtración está estrechado, y el iris puede obstruir la red trabecular en la entrada del canal de Schlemm. La dilatación de la pupila puede empujar la raíz del iris hacia delante contra el ángulo, y puede producir un bloqueo de la pupila y precipitar de este modo un ataque agudo. Los ojos con ángulos de cámara anterior estrechos están predispuestos a los ataques de glaucoma por cierre angular agudos de varios grados de gravedad.

20 El glaucoma secundario está causado por cualquier interferencia con el flujo de humor acuoso desde la cámara posterior a la cámara anterior y posteriormente, al canal de Schlemm. La enfermedad inflamatoria del segmento anterior puede evitar un escape acuoso causando una sinequia posterior completa en iris abombado, y puede taponar el canal de drenaje con exudados. Otras causas comunes son tumores intraoculares, cataratas ampliadas, oclusión venosa retiniana central, traumatismo del ojo, intervenciones quirúrgicas y hemorragia intraocular.

25 Considerando todos los tipos de forma conjunta, el glaucoma tiene lugar en aproximadamente un 2 % de todas las personas de edad superior a 40 y puede ser asintomático durante años antes de progresar a una rápida pérdida de visión. En los casos en los que la cirugía no está indicada, los antagonistas del adrenergico β tópicos han sido habitualmente los fármacos de elección para tratar el glaucoma.

30 Ciertos eicosanoides y sus derivados están comercialmente disponibles actualmente para su uso en la gestión de glaucomas. Los eicosanoides y derivados incluyen numerosos compuestos biológicamente importantes, tal como las prostaglandinas y sus derivados. Las prostaglandinas pueden describirse como derivados del ácido prostanoico que tienen la siguiente fórmula estructural:



35 Se conocen varios tipos de prostaglandinas, dependiendo de la estructura y los sustituyentes portados en el anillo alicíclico de la estructura principal del ácido prostanoico. La clasificación adicional se basa en el número de enlaces no saturados en la cadena lateral indicada por los subíndices numéricos después del tipo genérico de la prostaglandina [por ejemplo, prostaglandina E_1 (PGE_1), prostaglandina E_2 (PGE_2)], y en la configuración de los sustituyentes en el anillo alicíclico indicado por α o β [por ejemplo, prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\beta}$)].

40 Se cree que los agonistas selectivos de prostaglandina EP_2 tienen varios usos médicos. Por ejemplo, la patente de los Estados Unidos con n.º 6.437.146 enseña el uso de agonistas selectivos de prostaglandina EP_2 "para tratar o evitar inflamación y dolor en las articulaciones y los músculos (por ejemplo, artritis reumatoide, espondilitis reumatoide, osteoartritis, artritis gotosa, artritis juvenil, etc.), estado inflamatorio de la piel (por ejemplo, quemadura solar, quemaduras, eccema, dermatitis, etc.), estado inflamatorio del ojo (por ejemplo, conjuntivitis, etc.), trastorno pulmonar en el que está implicada inflamación (por ejemplo, asma, bronquitis, enfermedad del pulmón de criador de

aves, pulmón de granjero, etc.), estado del tracto gastrointestinal asociado con inflamación (por ejemplo, úlcera aftosa, enfermedad de Crohn, gastritis atrófica, gastritis varialoforme, colitis ulcerosa, enfermedad celíaca, ileitis regional, síndrome del intestino irritable, etc.), gingivitis, inflamación, dolor y tumefacción después de una intervención o lesión, pirexia, dolor y otros estados asociados con inflamación, enfermedad alérgica, lupus eritematoso sistémico, esclerodermia, polimiositis, tendinitis, bursitis, periarteritis nodular, fiebre reumática, síndrome de Sjögren, enfermedad de Behcet, tiroiditis, diabetes de tipo I, complicación diabética (microangiopatía diabética, retinopatía diabética, nefropatía diabética, etc.), síndrome nefrótico, anemia aplásica, miastenia grave, uveítis, dermatitis de contacto, psoriasis, enfermedad de Kawasaki, sarcoidosis, enfermedad de Hodgkin, enfermedad de Alzheimer, insuficiencia renal (nefritis, síndrome nefrítico, etc.), insuficiencia hepática (hepatitis, cirrosis, etc.), insuficiencia gastrointestinal (diarrea, enfermedad inflamatoria del intestino, etc.), choque, enfermedad ósea caracterizada por metabolismo óseo anómalo tal como osteoporosis (especialmente, osteoporosis postmenopáusica), hipercalcemia, hiperparatiroidismo, enfermedades óseas de Paget, osteólisis, hipercalcemia de tumores malignos con o sin metástasis ósea, artritis reumatoide, periodontitis, osteoartritis, ostealgia, osteopenia, caquexia en cáncer, calculosis, litiasis (especialmente, urolitiasis), carcinoma sólido, glomerulonefritis mesangial proliferativa, edema (por ejemplo, edema cardíaco, edema cerebral, etc.), hipertensión tal como hipertensión maligna o similares, síndrome premenstrual, cálculo urinario, oliguria tal como la que causa un fallo agudo o crónico, hiperfosfaturia, o similares”.

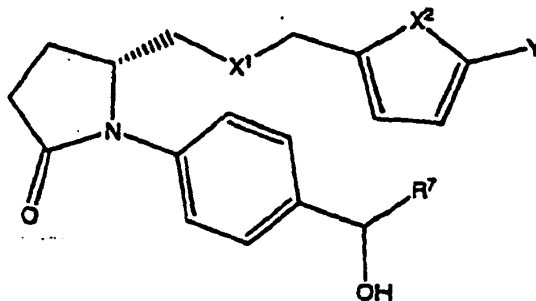
La patente de los Estados Unidos con n.º 6.710.072 enseña el uso de agonistas de EP₂ para el tratamiento o la prevención de “osteoporosis, estreñimiento, trastornos renales, disfunción sexual, alopecia, diabetes, cáncer y en trastorno de regulación inmunitaria... varias enfermedades patofisiológicas incluyendo infarto agudo de miocardio, trombosis vascular, hipertensión, hipertensión pulmonar, insuficiencia cardíaca isquémica, insuficiencia cardíaca congestiva y angina de pecho”.

Breve descripción de las figuras de dibujo

Las figuras 1 a 16 muestran ejemplos de procedimientos que pueden usarse para preparar los compuestos que se dan a conocer en el presente documento.

Descripción de la invención

En el presente documento se da a conocer un compuesto que comprende



o una sal farmacéuticamente aceptable, profármaco, o un metabolito del mismo,

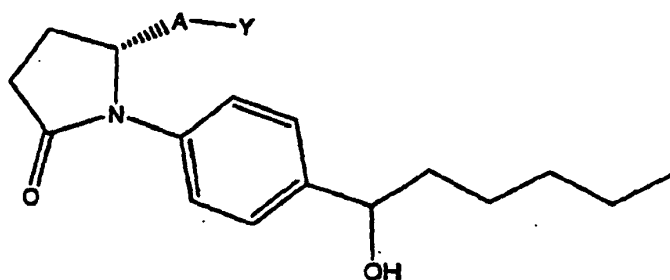
en la que Y es un grupo funcional ácido orgánico, o una amida o éster del mismo que comprende hasta 12 átomos de carbono; o Y es hidroximetilo o un éter del mismo que comprende hasta 12 átomos de carbono: o

Y es un grupo funcional tretazolilo;

en la que X¹ y X² son independientemente CH, O, o S; y

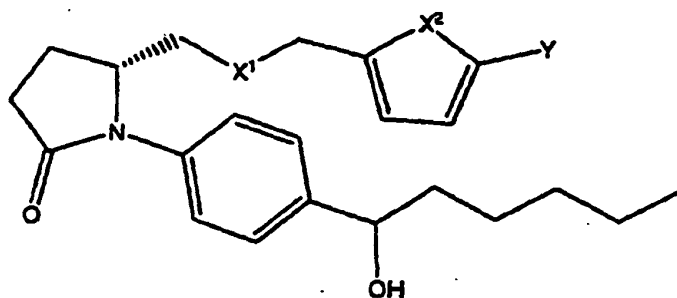
R⁷ es un alquilo lineal que comprende de 3 a 7 átomos de carbono.

Otros compuestos comprenden



o una sal farmacéuticamente aceptable, profármaco, o un metabolito del mismo.

Otros compuestos comprenden



- 5 o una sal farmacéuticamente aceptable, profármaco, o un metabolito del mismo, en la que X^1 y X^2 son independientemente CH, O, o S.

Otros compuestos comprenden los de la reivindicación 2.

La determinación de si un compuesto es activo en un receptor de prostaglandina está lo bastante dentro de la capacidad del experto en la técnica. La determinación de si un compuesto es activo en un receptor de prostaglandina EP₂ está también lo bastante dentro de la capacidad de un experto en la técnica. A pesar de que no se pretende limitar el alcance de la invención en modo alguno, se proporciona también un procedimiento de realizar tales determinaciones en los ejemplos en el presente documento.

La determinación de si un compuesto es efectivo para reducir la presión intraocular en un mamífero está lo bastante dentro de la capacidad de un experto en la técnica. A pesar de que no se pretende limitar el alcance de la invención en modo alguno, se dan procedimientos de determinación de si un compuesto es efectivo para reducir la presión intraocular para unos pocos mamíferos a modo de ejemplo en el presente documento.

Los compuestos que se dan a conocer en el presente documento son útiles para la prevención o el tratamiento del glaucoma o de la hipertensión ocular en mamíferos, o para la preparación de un medicamento para el tratamiento del glaucoma o de la hipertensión ocular. Éstos son útiles también para el tratamiento de aquellas enfermedades que se dan a conocer en la técnica como susceptibles a su tratamiento mediante agonista de prostaglandina EP₂, tal como los que se enumeran anteriormente.

Una "sal farmacéuticamente aceptable" es cualquier sal que conserva la actividad del compuesto precursor y que no confiere efecto perjudicial o adverso adicional alguno, sujeto al cual ésta se administra y en el contexto en el cual ésta se administra, en comparación con el compuesto precursor. Una sal farmacéuticamente aceptable también o se refiere a cualquier sal que pueda formarse *in vivo* como resultado de un ácido, otra sal, o un profármaco que se convierte en un ácido o sal.

Pueden derivarse sales farmacéuticamente aceptables de grupos funcionales ácidos a partir de bases orgánicas o inorgánicas. La sal puede comprender un ión mono- o polivalente. De un interés particular son los iones inorgánicos, litio, sodio, potasio, calcio y magnesio. Pueden fabricarse sales orgánicas con aminas, en particular, sales de amonio tal como mono-, di- y trialquil-aminas o etanol-aminas. También pueden formarse sales con cafeína, trometamina y moléculas similares. El ácido clorhídrico, o algún otro ácido farmacéuticamente aceptable, puede formar una sal con un compuesto que incluye un grupo básico, tal como una amina o un anillo de piridina.

Un "profármaco" es un compuesto que se convierte en un compuesto terapéuticamente activo después de la administración, y el término debería interpretarse en un sentido tan amplio en el presente documento como se entiende generalmente en la técnica. A pesar de que no se pretende limitar el alcance de la invención, la conversión puede tener lugar por hidrólisis de un grupo éster o algún otro grupo biológicamente lábil. En general, pero no necesariamente, un profármaco es inactivo o menos activo que el compuesto terapéuticamente activo en el cual éste se convierte. Los profármacos de éster de los compuestos que se dan a conocer en el presente documento se

contemplan específicamente. Puede derivarse un éster a partir de un ácido carboxílico de C1 (es decir, el ácido carboxílico terminal de una prostaglandina natural), o puede derivarse un éster a partir de un grupo funcional ácido carboxílico en otra parte de la molécula, tal como en un anillo de fenilo. A pesar de que no se pretende ser limitante, un éster puede ser un éster alquílico, un éster arílico o un éster heteroarílico. El término alquilo tiene el significado que entienden en general los expertos en la técnica y se refiere a restos de alquilo lineal, ramificado o cíclico. Los ésteres alquílicos C₁₋₆, en los que la parte de alquilo del éster tiene de 1 a 6 átomos de carbono e incluye, pero sin limitación, metilo, etilo, propilo, isopropilo. *n*-butilo, *sec*-butilo, *iso*-butilo, *t*-butilo, isómeros de pentilo, isómeros de hexilo, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, y combinaciones de los mismos que tienen de 1 a 6 átomos de carbono, etc, son particularmente útiles.

10 Un metabolito se define en sentido amplio como un compuesto que se forma *in vivo* a partir del compuesto que se da a conocer.

Los expertos en la técnica entenderán fácilmente que, para la administración o la fabricación de medicamentos, los compuestos que se dan a conocer en el presente documento pueden mezclarse con excipientes farmacéuticamente aceptables que en sí mismos son bien conocidos en la técnica. Específicamente, un fármaco que va a administrarse de forma sistémica, éste puede fabricarse como un polvo, píldora, comprimido o similar, o como una disolución, emulsión, suspensión, aerosol, jarabe o elixir adecuado para su administración oral o parenteral o su inhalación.

Para los medicamentos o formas de dosificación sólidos, los vehículos sólidos no tóxicos incluyen, pero sin limitación, grados farmacéuticos de manitol, lactosa, almidón, estearato de magnesio, sacarina de sodio, los polialquilen-glicoles, talco, celulosa, glucosa, sacarosa y carbonato de magnesio. Las formas de dosificación sólidas pueden no tener recubrimiento o éstas pueden recubrirse mediante unas técnicas conocidas para retardar su disgregación y absorción en el tracto gastrointestinal y para proporcionar de este modo una acción sostenida a lo largo de un periodo más largo. Por ejemplo, puede emplearse un material de retardo de tiempo, tal como el monoestearato de glicerilo o el diestearato de glicerol. Éstos pueden recubrirse también mediante la técnica que se describe en las patentes de los Estados Unidos con n.^{os} 4.256.108; 4.166.452; y 4.265.874, para formar unos comprimidos terapéuticos osmóticos para controlar la liberación. Las formas de dosificación farmacéuticamente administrables líquidas pueden comprender, por ejemplo, una disolución o suspensión de uno o más de los compuestos actualmente útiles y adyuvantes farmacéuticos opcionales en un vehículo, tal como por ejemplo, agua, solución salina, dextrosa acuosa, glicerol, etanol y similar, para formar de este modo una disolución o suspensión. Si se desea, la composición farmacéutica que va a administrarse puede contener también unas cantidades minoritarias de sustancias auxiliares no tóxicas, tal como agentes humectantes o emulsificantes, agentes de tamponamiento de pH y similares. Ejemplos típicos de tales agentes auxiliares son el acetato de sodio, monolaurato de sorbitán, trietanolamina, acetato de sodio, oleato de trietanolamina, etc. Se conocen procedimientos reales de preparación de tales formas de dosificación, o serán evidentes para los expertos en esta técnica; por ejemplo, véase Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, Pa., 16^a edición, 1980. La composición de la formulación que va a administrarse, en cualquier caso, contiene una cantidad de uno o más de los compuestos actualmente útiles en una cantidad efectiva para proporcionar el efecto terapéutico deseado.

La administración parenteral se caracteriza en general por la inyección, o bien por vía subcutánea, o bien por vía intramuscular, o bien por vía intravenosa. Pueden prepararse inyectables en formas convencionales, o bien como suspensiones o disoluciones líquidas, formas sólidas adecuadas para su disolución o suspensión en líquido antes de la inyección, o bien como emulsiones. Los excipientes adecuados son, por ejemplo, agua, solución salina, dextrosa, glicerol, etanol y similares. Además, si se desea, las composiciones farmacéuticas inyectables que van a administrarse pueden contener también unas cantidades minoritarias de sustancias auxiliares no tóxicas, tal como agentes humectantes o emulsificantes, agentes de tamponamiento de pH y similares.

La cantidad del compuesto o los compuestos actualmente útiles administrados depende, por supuesto, del efecto o los efectos terapéuticos deseados, del mamífero específico que está tratándose, de la gravedad y la naturaleza del estado del mamífero, de la forma de administración, de la potencia y farmacodinámica del compuesto o los compuestos particulares que se emplean, y del criterio del médico que prescribe. La dosificación terapéuticamente efectiva del compuesto o los compuestos actualmente útiles se encuentra preferentemente en el intervalo de aproximadamente 0,5, o aproximadamente 1, a aproximadamente 100 mg/kg/día.

Un líquido que es oftálmicamente aceptable se formula de tal modo que éste puede administrarse por vía tópica al ojo. La comodidad debería maximizarse en la medida de lo posible, a pesar de que a veces las consideraciones de formulación (por ejemplo, la estabilidad del fármaco) pueden necesitar una comodidad menos que óptima. En el caso de que la comodidad no pueda maximizarse, el líquido debería formularse de tal modo que el paciente pueda tolerar el líquido para su uso oftálmico tópico. Además, un líquido oftálmicamente aceptable debería o bien estar envasado para un único uso, o bien contener un conservante para evitar la contaminación a lo largo de múltiples usos.

Para la aplicación oftálmica, a menudo se preparan disoluciones o medicamentos usando una solución salina fisiológica como un vehículo principal. Las disoluciones oftálmicas deberían mantenerse, preferentemente, a un pH cómodo con un sistema tampón apropiado. Las formulaciones pueden contener también conservantes, estabilizantes y agentes tensioactivos convencionales farmacéuticamente aceptables.

5 Los conservantes que pueden usarse en las composiciones farmacéuticas de la presente invención incluyen, pero sin limitación, cloruro de benzalconio, clorobutanol, timerosal, acetato fenilmercúrico y nitrato fenilmercúrico. Un agente tensioactivo útil es, por ejemplo, Tween 80. De forma análoga, pueden usarse varios vehículos útiles en las preparaciones oftálmicas de la presente invención. Estos vehículos incluyen, pero sin limitación, poli(alcohol vinílico), povidona, hidroxipropil–metil–celulosa, poloxámeros, carboximetil–celulosa, hidroxietil–celulosa y agua purificada.

Pueden añadirse ajustadores de tonicidad según sea necesario o conveniente. Éstos incluyen, pero sin limitación, sales, en particular, cloruro de sodio, cloruro de potasio, manitol y glicerina, o cualquier otro ajustador de tonicidad oftálmicamente aceptable adecuado.

10 Pueden usarse varios tampones y medios para ajustar el pH siempre que la preparación resultante sea oftálmicamente aceptable. Por consiguiente, los tampones incluyen tampones de acetato, tampones de citrato, tampones de fosfato y tampones de borato. Pueden usarse ácidos o bases para ajustar el pH de estas formulaciones, según sea necesario.

15 De una forma similar, un antioxidante oftálmicamente aceptable para su uso en la presente invención incluye, pero sin limitación, metabisulfito de sodio, tiosulfato de sodio, acetilcisteína, hidroxianisol butilado e hidroxitolueno butilado.

Otros componentes de excipiente que pueden incluirse en las preparaciones oftálmicas son los agentes quelantes. Un agente quelante útil es el edetato de disodio, a pesar de que pueden usarse también otros agentes quelantes en lugar de o en conjunción con éste.

Los componentes se usan habitualmente en las siguientes cantidades:

Componente	Cantidad (% p/v)
componente activo	aproximadamente 0,001–5
conservante	0–0,10
vehículo	0–40
ajustador de tonicidad	1–10
tampón	0,01–10
ajustador de pH	c.s. pH 4,5–7,5
antioxidante	según sea necesario
agente tensioactivo	según sea necesario
agua purificada	según sea necesario para completar el 100 %

20 Para uso tópico, se emplean cremas, pomadas, geles, disoluciones o suspensiones, etc., que contienen el compuesto que se da a conocer en el presente documento. Las formulaciones tópicas pueden estar compuestas generalmente por un vehículo, codisolvente, emulsionante, potenciador de la penetración, sistema conservante y emoliente farmacéutico.

25 La dosis real de los compuestos activos de la presente invención depende del compuesto específico y del estado que va a tratarse; la selección de la dosis apropiada está lo bastante dentro del conocimiento del experto.

Los compuestos que se dan a conocer en el presente documento son útiles también junto con otros fármacos útiles para el tratamiento del glaucoma u otros estados.

30 Para el tratamiento del glaucoma, se contempla el tratamiento de combinación con las siguientes clases de fármacos:

β–Bloqueantes (o antagonistas β–adrenérgicos) incluyendo carteolol, levobunolol, metiparanolol, hemihidrato de timolol, maleato de timolol, antagonistas β1–selectivos tal como betaxolol, y similar, o sales o profármacos farmacéuticamente aceptables de los mismos;

Agonistas adrenérgicos incluyendo

agonistas adrenérgicos no selectivos tal como borato de epinefrina, clorhidrato de epinefrina y dipivefrina, y similar, o sales o profármacos farmacéuticamente aceptables de los mismos; y agonistas adrenérgicos α_2 -selectivos tal como apraclonidina, brimonidina, y similar, o sales o profármacos farmacéuticamente aceptables de los mismos;

5 Inhibidores de la anhidrasa carbónica incluyendo acetazolamida, diclorfenamida, metazolamida, brinzolamida, dorzolamida, y similar, o sales o profármacos farmacéuticamente aceptables de los mismos;

Agonistas colinérgicos incluyendo

10 agonistas colinérgicos de acción directa tal como carbacol, clorhidrato de pilocarpina, nitrato de pilocarpina, pilocarpina, y similar, o sales o profármacos farmacéuticamente aceptables de los mismos; inhibidores de la colinesterasa tal como demecario, ecotiofato, fisostigmina, y similar, o sales o profármacos farmacéuticamente aceptables de los mismos;

15 Antagonistas de glutamato y otros agentes neuroprotectores tal como bloqueantes de canales de Ca^{2+} tal como memantina, amantadina, rimantadina, nitroglicerina, dextrofanol, detrometorfano, CGS-19755, dihidropiridinas, verapamilo, emopamilo, benzotiazepinas, bepridilo, difenilbutilpiperidinas, difenilpiperazinas, HOE 166 y fármacos relacionados, fluspirileno, eliprotilo, ifenprodilo, CP-101606, tibalosina, 2309BT y 840S, flunarizina, nifedipina, nifedimpina, nimodipina, bamidipina, verapamilo, lidoflazina, lactato de prenilamina, amilorida, y similar, o sales o profármacos farmacéuticamente aceptables de los mismos;

20 Prostamidas tal como bimatoprost, o sales o profármacos farmacéuticamente aceptables de los mismos; y Prostaglandinas incluyendo travoprost, UFO-21, cloprostenol, fluprostenol, 13,14-dihidro-cloprostenol, isopropilo-unoproston, latanoprost y similares.

Cannabinoides incluyendo agonistas de CB1 tal como WIN-55212-2 y CP-55940 y similar, o sales o profármacos farmacéuticamente aceptables de los mismos.

25 Para el tratamiento de enfermedades que afectan al ojo, incluyendo el glaucoma, estos compuestos pueden administrarse por vía tópica, por vía periocular, por vía intraocular, o por cualesquiera otros medios efectivos conocidos en la técnica.

30 El tratamiento de la enfermedad inflamatoria del intestino puede lograrse mediante la administración de los compuestos que se describen en el presente documento al mamífero que la padece. La enfermedad inflamatoria del intestino describe una variedad de enfermedades que se caracterizan por la inflamación de los intestinos incluyendo, pero sin limitación, colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn. El tratamiento puede lograrse mediante administración oral, mediante supositorio o administración parenteral, o algún otro procedimiento adecuado.

35 A pesar de que no se pretende limitar el alcance de la invención en modo alguno, la administración de los compuestos que se dan a conocer en el presente documento al colon a través de formas de dosificación orales puede lograrse mediante cualquiera de una serie de procedimientos conocidos en la técnica. Por ejemplo, las revisiones de Chourasia y Jain en J Pharm Farmaceut Sci 6 (1): 33-66, 2003 y Shareef y col. (AAPS Pharm Sci 2003; 5 (2) Artículo 17), describen una serie de procedimientos útiles.

40 Estos procedimientos incluyen 1) la administración de un profármaco, incluyendo un profármaco a base de carbohidrato o un azo; 2) recubrir el fármaco con, o encapsular o impregnar el fármaco en un polímero diseñado para la administración al colon, 3) la administración liberada con el tiempo del fármaco, 4) el uso de un sistema bioadhesivo; y similar.

45 A pesar de que no se pretende estar limitado en modo alguno por la teoría, se cree que la microflora intestinal es capaz de una escisión reductora de un enlace azo, dejando los dos átomos de nitrógeno como grupos funcionales amina. A pesar de que no se pretende limitar el alcance de la invención en modo alguno, el enfoque de profármaco de azo se ha usado para administrar ácido 5-aminosalicílico al colon de humanos en ensayos clínicos para el tratamiento de la enfermedad inflamatoria del intestino. Se cree también que las bacterias del GI inferior tienen también enzimas que pueden digerir glicósidos, glucurónidos, ciclodextrinas, dextranos, y otros carbohidratos, y se ha mostrado que los profármacos de éster formados a partir de estos carbohidratos administran los fármacos activos precursores selectivamente al colon. Por ejemplo, los estudios *in vivo* e *in vitro* en ratas y cerdos de guinea con profármacos de dexametasona, prednisotona, hidrocortisona y fludrocortisona, sugieren que los conjugados de glicósido pueden ser útiles para la administración de esteroides al colon humano. Otros estudios *in vivo* han sugerido que los profármacos de glucurónido, ciclodextrina y dextrano de esteroides o fármacos antiinflamatorios no esteroideos son útiles para la administración de estos fármacos al tracto GI inferior. Se ha mostrado que una amida de ácido salicílico y ácido glutámico es útil para la administración de ácido salicílico al colon de conejo y perro.

55 A pesar de que no se pretende limitar el alcance de la invención en modo alguno, pueden usarse polímeros de carbohidrato tal como amilasa, arabinogalactano, quitosano, sulfato de condroitina, dextrano, goma guar, pectina, xilina, y similar, o polímeros que contienen grupos azo, para recubrir un compuesto farmacológico, o puede

impregnarse o encapsularse un fármaco en el polímero. Se cree que, después de la administración oral, los polímeros permanecen estables en el tracto GI superior, si bien se digieren por la microflora del GI inferior, liberando de este modo el fármaco para el tratamiento.

5 Pueden usarse también polímeros que son sensibles al pH, debido a que el colon tiene un pH más alto que el tracto GI superior. Tales polímeros están disponibles en el mercado. Por ejemplo, Rohm Pharmaceuticals, Darmstadt, Alemania, comercializa unos polímeros y copolímeros a base de metacrilato dependientes del pH que tienen unas solubilidades variables a lo largo de diferentes intervalos de pH en base al número de grupos carboxilato libres en el polímero, con el nombre comercial Endragit®. Actualmente, se usan varias formas de dosificación de Eudragit® para administrar salsalazina para el tratamiento de la colitis ulcerosa y de la enfermedad de Crohn. Se han estudiado también los sistemas de liberación temporal, los sistemas bioadhesivos, y otros sistemas de suministro.

Una realización es el uso de un compuesto tal como se ha definido anteriormente en la preparación de un medicamento para el tratamiento de la enfermedad inflamatoria del intestino

15 Las realizaciones que se contemplan para cada compuesto que se da a conocer en el presente documento son el uso del compuesto en la preparación de un medicamento para el tratamiento del glaucoma o de la hipertensión ocular.

Las realizaciones que se contemplan para cada compuesto que se da a conocer en el presente documento son el uso del compuesto en la preparación de un medicamento para el tratamiento de la enfermedad inflamatoria del intestino.

20 Las realizaciones que se contemplan para cada compuesto que se da a conocer en el presente documento son unos procedimientos que comprenden administrar una cantidad eficaz del compuesto a un mamífero para el tratamiento del glaucoma o de la hipertensión ocular.

Las realizaciones que se contemplan para cada compuesto que se da a conocer en el presente documento son unos procedimientos que comprenden administrar una cantidad eficaz del compuesto a un mamífero para el tratamiento de la enfermedad inflamatoria del intestino.

25 Las realizaciones que se contemplan para cada compuesto que se da a conocer en el presente documento son composiciones que comprenden el compuesto, en las que dichas composiciones son líquidos oftálmicamente aceptables.

Ejemplo 1 (Referencia)

Ácido 5-[(R)-1-(4-terc-butil-fenil)-5-oxo-pirrolidin-2-ilmetoxi]-pentanoico (4)

30 Etapa 1. Arilación de 1 para dar 2

Una disolución de amida 1 (3,30 g, 14,4 mmol) en 1,4-dioxano (25 ml) se añadió a una mezcla de 4,5-bis(trifenilphospino)-9,9-dimetilxanteno (xantfos, 600 mg, 1,04 mmol), Pd₂(dba)₃ (317 mg, 0,35 mmol) y Cs₂CO₃ (6,46 g, 19,8 mmol). Se añadió 1-bromo-4-terc-butilbenceno (240 ml, 13,8 mmol) y la mezcla de reacción se purgó con nitrógeno. La mezcla se calentó a reflujo durante 19 h, a continuación se enfrió a ta. La mezcla de reacción se filtró a continuación a través de Celite, lavando con CH₂Cl₂, y el filtrado se concentró al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (10 % → 20 % de EtOAc/ hexano, gradiente) dio 3,53 g (71 %) del producto deseado 2.

Etapa 2. Desprotección de 2 para dar 3

40 Se añadió HF-piridina (5 ml) a una disolución de silil éter 2 (3,53 g, 9,76 mmol) en MeCN (20 ml) en una botella de plástico. La reacción se agitó a ta durante 5 h, a continuación se inactivó con NaHCO₃ acuoso saturado (250 ml). La mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 100 ml). Los extractos combinados se lavaron con salmuera (150 ml), a continuación se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron al vacío para producir 2,14 g (89 %) del producto deseado 3.

Etapa 3. Alquilación de 3 para dar el éster de 4

45 Se añadió hidruro de sodio (11 mg, 0,46 mmol) a una disolución de alcohol 3 (100 mg, 0,40 mmol) en THP (3 ml) a 0 °C en una atmósfera de nitrógeno. Después de 1 h a 0 °C, se añadió 5-bromovalerato de metilo (67 µl 0,47 mmol) y la reacción se dejó calentar a ta. Después de 3 h, el análisis por ccf mostró, en su mayor parte, que quedaba alcohol de partida y se añadió otra porción de bromuro (67 µl, 0,47 mmol). Después de un tiempo de reacción total de 22 h, la reacción se inactivó con HCl 1 N y se extrajo con EtOAc (3 x 25 ml). Los extractos combinados se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (40 % de EtOAc/ hexano → EtOAc, gradiente) dio 19 mg (13 %) del éster deseado.

Etapa 4. Saponificación para dar 4

Se añadió hidróxido de litio acuoso (1 N, 0,5 ml) a una disolución del éster a partir de la etapa 3 anterior (12,3 mg, 0,034 mmol) en THF (0,7 ml). Después de 2,5 h a ta, la reacción se acidificó con 0,25 M HCl (5 ml), a continuación se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 7 ml). Los extractos combinados se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron al vacío para dar 10,2 mg (86 %) del compuesto del título (4)

5 Ejemplo 2 (Referencia)

3-[(R)-1-(4-terc-butil-fenil)-5-oxo-pirrolidin-2-ilmetoximetil]-benzoato añadir (5)

Etapa 1. Alquilación de 3 para dar el éster de 5

10 Hidruro de potasio (23,4 mg, 0,58 mmol) y 18-corona-6 (167 mg, 0,63 mmol) se añadieron de forma secuencial a una disolución de alcohol 3 (130 mg, 0,53 mmol) en THP (3 ml) a 0 °C. Después de 1 h a 0 °C, una disolución de 3-(clorometil)-benzoato de metilo (preparada a partir de los correspondientes cloruro de ácido, piridina y metanol: véase J. Org. Chem. 1988. 53, 2548-2552; 116 mg, 0,63 mmol) en THF (1,5 ml) se añadió mediante una cánula y la reacción se dejó calentar a ta. Después de 22,5 h, la reacción se interrumpió con HCl 0,1 N (10 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 15 ml).

15 Los extractos combinados se lavaron con NaHCO₃ acuoso saturado (15 ml) y salmuera (15 ml), a continuación se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación del residuo por cromatografía de columna ultrarrápida sobre gel de sílice (30 % → 50 % de EtOAc/ hexano, gradiente) dio 66 mg (32 %) del éster deseado.

Etapa 2. Saponificación para dar 5

20 Se añadió hidróxido de litio acuoso (1 N, 0,4 ml) a una disolución del éster a partir de la etapa 1 anterior (33,5 mg, 0,085 mmol) en THF (0,15 ml). Después de 3,5 h a ta, la reacción se acidificó con 0,25 M HCl (5 ml), a continuación se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 10 ml). Los extractos combinados se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (2 % de MeOH/ CH₂Cl₂), seguido de cromatografía de capa fina preparativa (10 % de MeOH/ CH₂Cl₂) dio 6,6 mg (20 %) del compuesto del título (5).

Ejemplo 3 (Referencia)

25 Ácido 5-[(R)-1-(4-terc-butil-fenil)-5-oxo-pirrolidin-2-ilmetoximetil]-furano-2-carboxílico (6)

Etapa 1. Alquilación de 3 para dar el éster de 6

30 Hidruro de potasio (27 mg, 0,67 mmol) y 18-corona-6 (193 mg, 0,73 mmol) se añadieron de forma secuencial a una disolución de alcohol 3 (150 mg, 0,61 mmol) en THF (4 ml) a 0 °C. Después de 1 h a 0 °C, una disolución de 5-clorometilfuran-2-carboxilato de metilo (disponible en el mercado de Aldrich Chemical Company, 138 mg, 0,73 mmol) en THF (1 ml) se añadió mediante una cánula y la reacción se dejó calentar a ta. Después de 18,5 h, la reacción se interrumpió con HCl 0,25 N (10 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 15 ml). Los extractos combinados se lavaron con salmuera (20 ml), a continuación se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (20 % → 50 % de EtOAc/ hexano, gradiente) dio 78 mg (32 %) del éster deseado.

35 Etapa 2. Saponificación para dar 6

Se añadió hidróxido de litio acuoso (1 N, 0,5 ml) a una disolución del éster a partir de la etapa 1 anterior (66,7 mg, 0,17 mmol) en THF (0,5 ml). Después de 3 h a ta, la reacción se acidificó con HCl 1 N (2 ml), a continuación se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 10 ml). Los extractos combinados se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron al vacío para dar 54,4 mg (88 %) del compuesto del título (6).

40 Ejemplo 4 (Referencia)

Ácido 5-[(R)-1-(4-terc-butil-fenil)-5-oxo-pirrolidin-2-ilmetoximetil]-tiofeno-2-carboxílico (7)

Etapa 1. Alquilación de 3 para dar el éster de 7

45 Hidruro de potasio (25,2 mg, 0,63 mmol) y 18-corona-6 (181 mg, 0,68 mmol) se añadieron de forma secuencial a una disolución de alcohol 3 (140 mg, 0,57 mmol) en THF (4 ml) a 0 °C. Después de 1,5 h a 0 °C, una disolución de 5-clorometiltiofeno-2-carboxilato de metilo (preparada de acuerdo con los procedimientos que se describen en el documento WO2004/037808; 130 mg, 0,68 mmol) en THF (1,5 ml) se añadió mediante una cánula y la reacción se dejó calentar a ta. Después de 20 h, la reacción se interrumpió con HCl 0,25 N (15 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 20 ml). Los extractos combinados se lavaron con salmuera (30 ml), a continuación se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (20 % → 50 % de EtOAc/ hexano, gradiente) dio 40,7 mg (18 %) del éster deseado.

50 Etapa 2. Saponificación para dar 7

Se añadió hidróxido de litio acuoso (1 N, 0,4 ml) a una disolución del éster a partir de la etapa 1 anterior (37 mg, 0,092 mmol) en THF (0,75 ml). Después de 18 h a ta, la reacción se acidificó con HCl 1 N (7 ml), a continuación se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 10 ml). Los extractos combinados se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron al vacío para dar 22,3 mg (62 %) del compuesto del título (7).

5 Ejemplo 5 (Referencia)

Ácido 7-[(S)-1-(4-terc-butil-fenil)-5-oxo-pirrolidin-2-il]-heptanoico (10)

Etapa 1. Oxidación de 3 para dar el aldehído 8

10 Tamices moleculares (4Å, 300 mg), 4-metilmorfolina N-óxido (427 mg, 3,64 mmol) y perrutenato de tetrapropilamonio (250 mg, 0,71 mmol) se añadieron de forma secuencial a una disolución de alcohol 3 (600 mg, 2,43 mmol) en CH₂Cl₂ (15 ml) a ta. Después de 23 h, la mezcla de reacción se filtró a través de Celite, lavando con CH₂Cl₂ (10 ml). El filtrado se concentró al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (CH₂Cl₂ → 10 % de EtOAc/ CH₂Cl₂, gradiente) dio 92 mg (15 %) del aldehído deseado 8.

Etapa 2. Reacción de Wittig de 8 para dar 9

15 Bis(trimetilsilil)amida de potasio (0,5 M en PhMe, 1,92 ml, 0,96 mmol) se añadió a una disolución de aldehído 8 (86 mg, 0,35 mmol) en THF (2 ml) a ta. Después de 15 min a ta, la mezcla de reacción se enfrió a -55 °C durante 10 min antes de que se añadiera una disolución de bromuro de 5-carboxipentiltrifenilfosfonio (207 mg, 0,43 mmol) mediante una cánula. Después de 10 min a -55 °C, la reacción se dejó calentar a ta. Después de 18 h a ta, la reacción se interrumpió con NH₄Cl acuoso saturado (15 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 15 ml). Los extractos combinados se lavaron con salmuera (20 ml), se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación del residuo por cromatografía de capa fina preparativa (5 % de MeOH/ CH₂Cl₂) dio 10,5 mg (9 %) del alqueno deseado 9.

Etapa 3. Hidrogenación de 9 para dar 10

25 Se añadió paladio sobre carbono (10 % en peso, 2 mg) a una disolución de alqueno 9 (5,8 mg, 0,017 mmol) en MeOH (1 ml). Se estableció una atmósfera de hidrógeno mediante evacuación y llenado de nuevo con hidrógeno (3 x) y la mezcla de reacción se agitó en una atmósfera de hidrógeno durante 18 h. La mezcla de reacción se filtró a través de Celite, lavando con MeOH, y el filtrado se concentró al vacío para dar 4,1 mg (70 %) del compuesto del título (10).

Ejemplo 6 (Referencia)

30 Ácido de 5-[(R)-1-[4-(1-hidroxi-hexil)-fenil]-5-oxo-pirrolidin-2-ilmetoximetil]-furan-2-carboxílico (17)

Etapa 1. Arilación de 1 para dar 12

35 Una disolución de amida 1 (2,89 g, 12,60 mmol) en 1,4-dioxano (20 ml) seguido de una disolución de 1-(4-metoxibenciloximetil)-4-bromobenceno (11: para la síntesis, véase Allergan docket n.º 17693; 3,88 g, 12,63 mmol) se añadieron de forma secuencial a una mezcla de xantfos (877 mg, 1,52 mmol), Pd₂(dba)₃ (463 mg, 0,51 mmol) y Cs₂CO₃ (3,2 g, 9,82 mmol) mediante una cánula. La mezcla de reacción se purgó con nitrógeno y a continuación se calentó a reflujo durante 22 h. La mezcla de reacción se dejó enfriar a ta, a continuación se filtró a través de Celite, lavando con CH₂Cl₂, y el filtrado se concentró al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (5 % → 25 % de EtOAc/ hexano, gradiente) dio 1,70 g (30 %) del producto deseado 12.

40 Etapa 2. Desprotección de 12 para dar 13

45 Se añadió HF-piridina (5 ml) a una disolución de silil éter 12 (1,38 g, 3,03 mmol) en MeCN (15 ml) en una botella de plástico a 0 °C. La reacción se agitó a 0 °C durante 3 h, a continuación se inactivó con NaHCO₃ acuoso saturado (250 ml). La mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 100 ml). Los extractos combinados se lavaron con salmuera (100 ml), a continuación se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (1 % → 3 % de MeOH/ CH₂Cl₂, gradiente) dio 464 mg (45 %) del alcohol deseado 13.

Etapa 3. Alquilación de alcohol 13 para dar 14

50 Hidruro de potasio (44 mg, 1,10 mmol) y 18-corona-6 (365 mg, 1,38 mmol) se añadieron de forma secuencial a una disolución de alcohol 13 (315 mg, 0,92 mmol) en THF (4 ml) a 0 °C. Después de 1 h a 0 °C, se añadió 5-clorometilfuran-2-carboxilato de etilo (0,28 ml) 1,82 mmol) y la reacción se dejó calentar a ta. Después de 22 h, la reacción se interrumpió con HCl 0,5 N (20 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 25 ml). Los extractos combinados se lavaron con salmuera (50 ml), a continuación se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (20 % de EtOAc/ hexano →

EtOAc, gradiente) dio 148 mg (32 %) del producto deseado **14**.

Etapas 4. Desprotección oxidativa de 14 para dar 15 y 16

Se añadió 2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona (DDQ, 82 mg, 0,36 mmol) a una mezcla de 14 (143 mg, 0,29 mmol) en CH₂Cl₂ (4 ml) y agua (0,2 ml). Después de 3 h, la ccf indicó que quedaba material de partida y se añadió otra porción de DDQ (82 mg, 0,36 mmol). A continuación de 1,25 h adicionales, la reacción se interrumpió con NaHCO₃ acuoso saturado (20 ml). La mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 20 ml). Los extractos combinados se lavaron con salmuera (20 ml), a continuación se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación del residuo por cromatografía de columna ultrarrápida sobre gel de sílice (CH₂Cl₂ → 3 % de MeOH/ CH₂Cl₂, gradiente) dio 38 mg (35 %) del alcohol deseado **15** y **61** mg del aldehído impuro 16. El aldehído 16 se purificó adicionalmente por cromatografía de capa fina preparativa (5 % de MeOH/ CH₂Cl₂) para dar 48,7 mg (45 % de aldehído **16**).

Etapas 5. Oxidación de 15 para dar 16

Tamices moleculares (4Å, 3 mg), 4-metilmorfolina *N*-óxido (12,6 mg, 0,11 mmol) y perrutenato de tetrapropilamonio (2,5 mg, 0,007 mmol) se añadieron de forma secuencial a una disolución de alcohol **15** (26,8 mg, 0,072 mmol) en CH₂Cl₂ (1,5 ml) a ta. Después de 20 min, la mezcla de reacción se filtró a través de Celite, lavando con CH₂Cl₂ (5 ml). El filtrado se concentró al vacío. La purificación del residuo por cromatografía de capa fina preparativa (5 % de MeOH/ CH₂Cl₂) dio 9,6 mg (36 %) del aldehído deseado **16**.

Etapas 6. Reacción de Grignard con 16 para dar el éster de 17

Se añadió bromuro de pentil-magnesio (2,0 M en Et₂O, 32 µl, 0,064 mmol) a una disolución de aldehído 16 (21,1 mg, 0,058 mmol) en THF (0,4 ml) at -40 °C en una atmósfera de nitrógeno. Después de 25 min, la reacción se interrumpió con NH₄Cl acuoso saturado y se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 7 ml). Los extractos combinados se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación del residuo por cromatografía de capa fina preparativa (5 % de MeOH/ CH₂Cl₂) dio 10,6 mg (41 %) del éster deseado.

Etapas 7. Saponificación para dar 17

Se añadió hidróxido de litio acuoso (1 N, 0,1 ml) a una disolución del éster a partir de la etapa 6 anterior (8,8 mg, 0,02 mmol) en THF (0,2 ml). Después de 1 h a ta, la reacción se acidificó con HCl 0,5 N (1 ml), a continuación se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 7 ml). Los extractos combinados se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron al vacío para dar 8,2 mg (99 %) del compuesto del título (**17**).

Ejemplo 7 (Referencia)

Ácido de 5-((R)-1-[4-(1-hidroxi-2-metil-propil)-fenil]-5-oxo-2-ilmetoxmetil]-furan-2-carboxílico (**18**)

Etapas 1. Reacción de Grignard con 16 para dar el éster de 18

Se añadió cloruro de isopropil-magnesio (2,0 M en THF, 31 µl, 0,062 mmol) a una disolución de aldehído **16** (20,5 mg, 0,055 mmol) en THF (0,4 ml) a -40 °C en una atmósfera de nitrógeno. Después de 35 min, la reacción se interrumpió con NH₄Cl acuoso saturado y se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 7 ml). Los extractos combinados se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación del residuo por cromatografía de capa fina preparativa (5 % de MeOH/ CH₂Cl₂) dio 5 mg (22 %) del éster deseado.

Etapas 2. Saponificación para dar 18

Se añadió hidróxido de litio acuoso (1 N, 0,05 ml) a una disolución del éster a partir de la etapa 1 anterior (3,1 mg, 0,007 mmol) en THF (0,15 ml). Después de 1 h a ta, la reacción se acidificó con HCl 0,2 N (1 ml), a continuación se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 7 ml). Los extractos combinados se secaron (Na₂O₄), se filtraron y se concentraron al vacío para dar 2,5 mg (86 %) del compuesto del título (**18**).

Ejemplo 8 (Referencia)

Ácido S-((R)-1-[4-(1-hidro-2-fenil-etil)-fenil]-5-oxo-pirrolidin-2-ilmetoximetil]-furan-2-carboxílico (**19**)

Etapas 1. Reacción de Grignard con 16 para dar el éster de 19

Se añadió cloruro de bencil-magnesio (2,0 M en M en THF, 14 µl, 0,028 mmol) a una disolución de aldehído **16** (9,6 mg, 0,026 mmol) en THF (0,3 ml) a -40 °C bajo nitrógeno. Después de 45 min, la reacción se calentó a 0 °C. Después de 25 min a 0 °C, la reacción se interrumpió con NH₄Cl acuoso saturado y se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 7 ml). Los extractos combinados se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación del residuo por cromatografía de capa fina preparativa (7 % de MeOH/ CH₂Cl₂) dio 3,3 mg (28 %) del éster deseado.

Etapas 2. Saponificación para dar 19

Se añadió hidróxido de litio acuoso (1 N, 0,05 ml) a una disolución del éster a partir de la etapa 1 anterior (2,4 mg,

0,005 mmol) en THF (0,15 ml). Después de 2,5 h a ta, la reacción se acidificó con HCl 0,2 N (1 ml), a continuación se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 7 ml). Los extractos combinados se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron al vacío para dar 2,2 mg (98 %) del compuesto del título (**19**)

Ejemplo 9 (Referencia)

5 Ácido 5-((R)-1-[4-(1-hidroxi-hexil)-fenil]-5-oxo-pirrolidin-2-ilmetoximetil)-tiofeno-2-carboxílico (**23**)

Etapa 1. Alquilación de **13** para dar **20**

10 Hidruro de potasio (55,5 mg, 1,38 mmol) y 18-corona-6 (456 mg, 1,73 mmol) se añadieron de forma secuencial a una disolución de alcohol **13** (394 mg, 1,15 mmol) en THF (5 ml) a 0 °C. Después de 1 h a 0 °C, una disolución de 15-clorometiltiofeno-2-carboxilato de metilo (439 mg, 2,30 mmol) en THF (2 ml) se añadió mediante una cánula y la reacción se dejó calentar a ta. Después de 19 h, el análisis por ccf mostró que quedaba material de partida. Se añadió otra porción de KH (20 mg, 0,5 mmol) y la reacción se calentó a 50 °C. Después de 2 h a 50 °C, la reacción se enfrió y se inactivó con 0,5 N KCl (20 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 25 ml). Los extractos combinados se lavaron con salmuera (50 ml), a continuación se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación del residuo por cromatografía de columna ultrarrápida sobre gel de sílice (15 % de EtOAc/ hexano → EtOAc, gradiente) dio 108 mg (19 %) del producto deseado **20**.

Etapa 2. Desprotección oxidativa de **20** para dar **21** y **22**

20 Se añadió DDQ (91 mg, 0,40 mmol) a una mezcla de **20** (98 mg, 0,20 mmol) en CH₂Cl₂ (3 ml) y agua (0,15 ml). Después de 4,5 h, la reacción se interrumpió con NaHCO₃ acuoso saturado (15 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 25 ml). Los extractos combinados se lavaron con salmuera (40 ml), a continuación se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación del residuo por cromatografía de capa fina preparativa (5 % de MeOH/ CH₂Cl₂ dio 14,4 mg (19 %) de alcohol **21** y 16,2 mg (22 %) de aldehído **22**.

Etapa 3. Reacción de Grignard con **22** para dar el éster de **23**

25 Se añadió bromuro de pentil-magnesio (2,0 M en Et₂O, 22 µl, 0,044 mmol) a una disolución de aldehído **22** (11 mg, 0,029 mmol) en THF (0,2 ml) a -40 °C en una atmósfera de nitrógeno. Después de 1,5 h, la reacción se interrumpió con NH₄Cl acuoso saturado y se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 7 ml). Los extractos combinados se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación del residuo por cromatografía de capa fina preparativa (5 % de MeOH/ CH₂Cl₂) dio 4,8 mg (37 %) del éster deseado.

Etapa 4. Saponificación para dar **23**

30 Se añadió esterasa de hígado de conejo (134 unidades/mg, 1 mg) a una disolución del éster a partir de la etapa 3 anterior (3,6 mg, 0,008 mmol) en MeCN (0,1 ml) y tampón de pH 7,2 (2,5 ml). Después de 16,5 h a ta, la reacción se diluyó con MeCN (7 ml) y se concentró al vacío. El residuo se suspendió en CH₂Cl₂ y se filtró a través de un tapón de algodón. El filtrado se concentró al vacío para dar 2,0 mg (57 %) del compuesto del título (**23**).

Ejemplo 10 (Referencia)

35 Éster isopropílico del ácido 5-((R)-1-[4-(1-hidroxi-hexil)-fenil]-5-oxo-pirrolidin-2-ilmetoximetil)-tiofeno-2-carboxílico (**28**)

Etapa 1. Arilación de **1** para dar **24**

40 Una disolución de amida **1** (3,37 g, 14,7 mmol) en 1,4-dioxano (30 ml) se añadió a una mezcla de Pd₂(dba)₃ (540 mg, 0,59 mmol), xantfos (1,02 g, 1,76 mmol) y Cs₂CO₃ (5,74 g, 17,6 mmol). Una disolución de 1-(1-(4-metoxibenciloxihexil)-4-bromobenceno (preparación **1**, 4,99 g, 13,22 mmol) en 1,4-dioxano (30 ml) se añadió mediante una cánula, seguido de 40 ml adicionales de **1,4**-dioxano. La mezcla de reacción se purgó con nitrógeno, a continuación se calentó a reflujo durante una noche. Después de 20 h, la reacción se enfrió a ta y se filtró a través de Celite, lavando con CH₂Cl₂. El filtrado se concentró al vacío y el residuo se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (5 % → 30 % de EtOAc/ hexano, gradiente) para dar 5,79 g (83 %) del producto deseado **24**.

45 Etapa 2. Desprotección de **24** para dar **25**

50 Se añadió HF-piridina (7 ml) a una disolución de silil éter **24** (4,05 g, 7,72 mmol) en MeCN (40 ml) en una botella de plástico a 0 °C. La reacción se agitó a 0 °C durante 1 h, a continuación se inactivó con NaHCO₃ acuoso saturado (300 ml). La mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 150 ml). Los extractos combinados se lavaron con salmuera (200 ml), a continuación se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre sílice (CH₂Cl₂ → 3 % de MeOH/ CH₂Cl₂, gradiente) dio 2,3 g (72 %) del alcohol deseado **25**.

Etapa 3. Alquilación de **25** para dar **26**

Se añadió hidruro de potasio (155 mg, 3,86 mmol) a una disolución de alcohol **25** (1,22 g, 2,97 mmol) en THF (7 ml) a 0 °C. Después de 15 min a 0 °C, se añadió 18–corona–6 (1,02 g, 3,86 mmol). Después de 45 min más a 0 °C, una disolución de 5–clorometiltiofeno–2–carboxilato de isopropilo (preparación 2, 650 mg, 2,97 mmol) en THF (5 ml) se añadió mediante una cánula. Se añadió yoduro de potasio (50 mg, 0,30 mmol) y la reacción se dejó calentar a ta.

5 Después de 20 h, la reacción se interrumpió con HCl 0,5 N (70 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 100 ml). Los extractos combinados se lavaron con salmuera (100 ml), a continuación se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (20 % de EtOAc/ hexano → EtOAc, gradiente) dio 296 mg (17 %) del producto deseado **26** junto con 747 mg (61 %) del alcohol de partida recuperado **25**.

10 Etapa 4. Desprotección oxidativa de **26** para dar **27** y **28**

Se añadió DDQ (93 mg, 0,41 mmol) a una disolución de **26** (220 mg, 0,37 mmol) en CH₂Cl₂ (4 ml) y agua (0,2 ml) a 0 °C en una atmósfera de nitrógeno. Después de 35 min, la reacción se interrumpió con NaHCO₃ acuoso saturado (30 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 30 ml). Los extractos combinados se lavaron con salmuera (50 ml), a continuación se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (20 % → 70 % de EtOAc/ hexano, gradiente) dio 13 mg (7 %) de cetona **27** y 108 mg (62 %) del compuesto del título (**28**).

Ejemplo 11 (Referencia)

Ácido 3–[(R)–1–[4–(1–hidroxi–hexil)–fenil]–5–oxo–pirrolidin–2–ilmetoximetil]–benzoico (**31**)

Etapa 1. Alquilación de **13** para dar **29**

20 Se añadió hidruro de potasio (16 mg, 0,39 mmol) a una disolución de alcohol **13** (112 mg, 0,33 mmol) en THF (1,0 ml) a 0 °C. Después de 1 h a 0 °C, 18–corona–6 (114 mg, 0,43 mmol), yoduro de potasio (5 mg, 0,03 mmol) y una disolución de metil 3–clorometilbenzoato (121 mg, 0,66 mmol) en THF (0,5 ml) se añadieron de forma secuencial. La reacción se dejó calentar a ta. Después de 19 h, la reacción se interrumpió con HCl 0,1 N (10 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 10 ml). Los extractos combinados se lavaron con salmuera (15 ml), a continuación se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (20 % de EtOAc/ hexano → EtOAc, gradiente) dio 23 mg (14 %) del producto deseado **29**.

Etapa 2. Desprotección oxidativa de **29** para dar **30**

30 Se añadió DDQ (23 mg, 0,10 mmol) a una mezcla de **29** (23 mg, 0,047 mmol) en CH₂Cl₂ y agua (20:1, 0,25 ml). Después de 3,75 h, la reacción se interrumpió con NaHCO₃ acuoso saturado (10 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 7 ml). Los extractos combinados se lavaron con salmuera (10 ml), a continuación se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación del residuo por cromatografía de capa fina preparativa (80 % de EtOAc/ Hex) dio 13 mg (58 %) de aldehído **30**.

Etapa 3. Reacción de Grignard con **30** para dar el éster de **31**

35 Se añadió bromuro de pentil–magnesio (2,0 M en Et₂O, 50 µl, 0,10 mmol) a una disolución de aldehído **30** (12,4 mg, 0,034 mmol) en THF (0,1 ml) a –40 °C en una atmósfera de nitrógeno. Después de 1 h, la reacción se interrumpió con NH₄Cl acuoso saturado (7 ml) y se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 7 ml). Los extractos combinados se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación del residuo por cromatografía de capa fina preparativa (5 % de MeOH/ CH₂Cl₂) dio 8,6 mg (58 %) del éster deseado.

Etapa 4. Saponificación para dar **31**

40 Se añadió esterasa de hígado de conejo (134 unidades/mg, 1 mg) a una disolución del éster a partir de la etapa 3 anterior (7,4 mg, 0,017 mmol) en MeCN (0,1 ml) y tampón de pH 7,2 (2,5 ml). Después de 18 h a ta, la reacción se diluyó con MeCN (7 ml) al vacío. La purificación del residuo por cromatografía de capa fina preparativa (5 % de MeOH/ CH₂Cl₂) dio 1,5 mg (21 %) del compuesto del título (**31**).

Ejemplo 12 (Referencia)

45 Ácido 5–[(R)–1–[4–(1–hidroxi–pentil)–fenil]–5–ilmetoximetil]–tiofeno–2–carboxílico (**32**)

Etapa 1. Reacción de Grignard con **22** para dar el de **32**

50 Se añadió cloruro de *n*–butil–magnesio (2,0 M en THF, 41 µl, 0,082 mmol) a una disolución de aldehído **22** (20,2 mg, 0,054 mmol) en THF (0,1 ml) a –40 °C en una atmósfera de nitrógeno. Después de 1 h, la reacción se interrumpió con NH₄Cl acuoso saturado (10 ml) y se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 7 ml). Los extractos combinados se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación del residuo por cromatografía de capa fina preparativa (5 % de MeOH/ CH₂Cl₂) dio 12,3 mg (53 %) del éster deseado.

Etapa 2. Saponificación para dar **32**

Se añadió esterasa de hígado de conejo (134 unidades/mg, 1 mg) a una disolución a partir de la etapa 1 anterior (11,2 mg, 0,026 mmol) en MeCN (0,1 ml) y tampón de pH 7,2 (3,0 ml). Después de 19 h a ta, la reacción se diluyó con MeCN (10 ml) y se concentró al vacío. El residuo se suspendió en 5 % de MeOH/ CH₂Cl₂ y se filtró a través de un tapón de algodón. El filtrado se concentró al vacío para dar 10,7 mg (99 %) del compuesto del título (**32**).

Ejemplo 13 (Referencia)

Ácido 5-((R)-1-[4-(1-hidroxi-heptil)-fenil]-5-oxo-pirrolidin-2-ilmetoximetil)-tiofeno-2-carboxílico (**33**)

Etapa 1. Reacción de Grignard con **22** para dar el éster de **33**

Se añadió bromuro de *n*-hexil-magnesio (2,0 M en Et₂O, 100 µl, 0,20 mmol) a una disolución de aldehído **22** (24,6 mg, 0,054 mmol) en THF (0,12 ml) at -40 °C en una atmósfera de nitrógeno. Después de 1,5 h, la reacción se interrumpió con NH₄Cl acuoso saturado (10 ml) y se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 7 ml). Los extractos combinados se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación del residuo por cromatografía de capa fina preparativa (5 % de MeOH/ CH₂Cl₂ dio 16,3 mg (54 %) del éster deseado.

Etapa 2. Saponificación para dar **33**

Se añadió esterasa de hígado de conejo (134 unidades/mg, 1 mg) a una disolución del éster a partir de la etapa 1 anterior (13 mg, 0,028 mmol) en MeCN (0,1 ml) y tampón de pH 7,2 (3,0 ml). Después de 18 h a ta, la reacción se diluyó con MeCN (10 ml) y se concentró al vacío. El residuo se suspendió en 5 % de MeOH/ CH₂Cl₂ y se filtró a través de un tapón de algodón. Se concentró al vacío para dar 11 mg (87 %) del compuesto del título (**33**).

Ejemplo 14 (Referencia)

Ácido 5-((R)-1-[4-(1-hidroxi-butil)-fenil]-5-oxo-pirrolidin-2-ilmetoximetil)-tiofen-2-carboxílico (**34**)

Etapa 1. Reacción de Grignard con **22** para dar el éster de **34**

Se añadió cloruro de *n*-propil magnesio (2,0 M en Et₂O, 82 µl, 0,18 mmol) a una disolución de aldehído **22** (22,9 mg, 0,061 mmol) en THF (0,12 ml) a -40 °C en una atmósfera de nitrógeno. Después de 1,75 h, la reacción se interrumpió con NH₄Cl acuoso saturado (10 ml) y se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 7 ml). Los extractos combinados se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación del residuo por cromatografía de capa fina preparativa (5 % de MeOH/ CH₂Cl₂ dio 13 mg (51 %) del éster deseado.

Etapa 2. Saponificación para dar **34**

Se añadió esterasa de hígado de conejo (134 unidades/mg, 1 mg) a una disolución del éster a partir de la etapa 1 anterior (10,8 mg, 0,026 mmol) en MeCN (0,1 ml) y tampón de pH 7,2 (3,0 ml). Después de 17 h a ta, la reacción se diluyó con MeCN (10 ml) y se concentró al vacío. El residuo se suspendió en 5 % de MeOH/ CH₂Cl₂ y se filtró a través de un tapón de algodón. El filtrado se concentró al vacío para dar 10,4 mg (99 %) del compuesto del título (**34**).

Ejemplo 15 (Referencia)

Ácido 5-((R)-1-[4-(1-hidroxi-propil)-fenil]-5-oxo-pirrolidin-2-ilmetoximetil)-tiofeno-2-carboxílico (**35**)

Etapa 1. Reacción de Grignard con **22** para dar el éster de **35**

Se añadió cloruro de etil-magnesio (2,0 M en Et₂O, 24 µl, 0,048 mmol) a una disolución de aldehído **22** (5,8 mg, 0,016 mmol) en THF (0,1 ml) at -40 °C en una atmósfera de nitrógeno. Después de 1,25 h, la reacción se interrumpió con NH₄Cl acuoso saturado (5 ml) y se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 5 ml). Los extractos combinados se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación del residuo por cromatografía de capa fina preparativa (5 % de MeOH/ CH₂Cl₂) dio 2,5 mg (40 %) del éster deseado.

Etapa 2. Saponificación para dar **35**

Se añadió esterasa de hígado de conejo (134 unidades/mg, 1 mg) a una disolución del éster a partir de la etapa 1 anterior (2,8 mg, 0,007 mmol) en MeCN (0,1 ml) y tampón de pH 7,2 (2,5 ml). Después de 17 h a ta, la reacción se diluyó con MeCN (10 ml) y se concentró al vacío. El residuo se suspendió en 5 % de MeOH/ CH₂Cl₂ y se filtró a través de un tapón de algodón. El filtrado se concentró al vacío para dar 2,7 mg (99 %) del compuesto del título (**35**).

Ejemplo 16 (Referencia)

Ácido 5-((E y Z)-3-((R)-1-[4-(1-hidroxi-hexil)-fenil]-5-oxo-pirrolidin-2-il)-alil)tiofeno-2-carboxílico (**41**)

Etapa 1. Oxidación de **25** para dar el aldehído **36**

Se añadió peryodinano de Dess–Martin (1,63 g, 3,83 mmol) a una disolución de alcohol **25** (1,43 g, 3,48 mmol) en CH₂Cl₂ (12 ml) a ta en una atmósfera de nitrógeno. Después de 1 h a ta, la reacción se interrumpió con NaHCO₃ acuoso saturado y NaHSO₃ acuoso saturado (1:1, 100 ml). La mezcla se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 150 ml). Los extractos combinados se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre sílice (2 % de MeOH/OH₂Cl dio 915 mg (64 %) del aldehído deseado **36**.

Etapa 2. Metilación de **36** para dar el alqueno **37**

Se añadió el reactivo de Tebbe (0,5 M en THF, 4,86 ml, 2,43 mmol) a una disolución de aldehído **36** (677 mg, 1,65 mmol) en THF (11 ml) a –40 °C en una atmósfera de nitrógeno. Después de 1 h a –40 °C, la reacción se interrumpió mediante la adición de NaOH 2 N acuoso (1,65 ml) y se agitó vigorosamente durante una noche en THF (15 ml). La mezcla se filtró a través de Celite, lavando con exceso de EtOAc. El filtrado se concentró al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre sílice (30 % → 50 % de EtOAc/ Hex) dio 254 mg (38 %) del alqueno deseado **37**.

Etapa 3. Reacción de metátesis de **37** para dar el alqueno **38**

Se añadió bencilideno–[1,3–bis(2,4,6–trimetilfenil)–2–imidazolidiniliden]dicloro(triciclohexilfosfina)–rutenio (catalizador de Grubbs, segunda generación, 48 mg, 0,057 mmol) a una disolución de alqueno **37** (230 mg, 0,56 mmol) y 5–aliltiofeno–2–carboxilato de metilo (preparación 3, 206 mg, 1,13 mmol) en CH₂Cl₂ (3,0 ml). La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 4 h. La mezcla de reacción se enfrió a ta y se añadieron más catalizador (48 mg, 0,057 mmol) y 5–aliltiofeno–2–carboxilato de metilo (100 mg, 0,55 mmol). La mezcla se calentó durante 18 h más a reflujo, a continuación se enfrió y se concentró al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre sílice (5 % → 50 % de EtOAc/ Hex, gradiente) dio 100 mg (32 %) del alqueno deseado **38** junto con 130 mg (57 %) del alqueno de inicio **37**.

Etapa 4. Desprotección oxidativa de **38** para dar **39** y **40**

Se añadió DDQ (58 mg, 0,26 mmol) a una mezcla de **38** (130 mg, 0,23 mmol) en CH₂Cl₂ (3,1 ml) y agua (0,16 ml) a 0 °C en una atmósfera de nitrógeno. Después de 45 min, la reacción se interrumpió con NaHCO₃ acuoso saturado (40 ml). La mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 30 ml). Los extractos combinados se lavaron con salmuera (25 ml), a continuación se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre sílice (50 % → 75 % de EtOAc/ Hex, gradiente) dio 28 mg de una mezcla inseparable de material de partida **38** y cetona **39**, y 63 mg (62 %) del alcohol deseado **40**.

Etapa 5. Saponificación de **40** para dar **41**

Se añadió esterasa de hígado de conejo (134 unidades/mg, 1 mg) a una disolución del éster **40** (3,7 mg, 0,008 mmol) en MeCN (0,2 ml) y tampón de pH 7,2 (2,5 ml). Después de 15,5 h a ta, la reacción se diluyó con MeCN (8 ml) y se concentró al vacío. El residuo se suspendió en un 10 % de MeOH/ CH₂Cl₂ y se filtró a través de un tapón de algodón. El filtrado se concentró al vacío para dar 3,0 mg (84 %) del compuesto del título (**41**).

35 Ejemplo 17 (Referencia)

Ácido 5–(3–{(S)–1–[4–(1–hidroxi–hexil)–fenil]–5–oxo–pirrolidin–2–il]–propil)–tiofeno–2–carboxílico (**43**)

Etapa 1. Hidrogenación de **40** para dar el éster **42**

Se añadió paladio sobre carbono (10 % en peso, 15 mg) a una disolución de alqueno **40** (63 mg, 0,14 mmol) en metanol (3,0 ml). Se estableció una atmósfera de hidrógeno mediante evacuación y llenado de nuevo con hidrógeno (3 x) y la mezcla de reacción se agitó en una atmósfera de hidrógeno. Después de 3 h a ta, la mezcla de reacción se filtró a través de Celite, lavando con MeOH, y el filtrado se concentró al vacío para dar 63 mg de producto en bruto. El análisis de RMN de ¹H mostró que quedaba material de partida, de tal modo que el material en bruto se sometió de nuevo a las condiciones anteriores. Después de 20 h a ta, la mezcla de reacción se filtró a través de Celite, lavando con MeOH, y el filtrado se concentró al vacío para dar 60 mg (95 %) del éster **42** deseado.

45 Etapa 2. Saponificación de **42** para dar **43**.

Se añadió hidróxido de litio 1 N acuoso (0,19 ml, 0,19 mmol) a una disolución del éster **42** (17 mg, 0,038 mmol) en THF (0,38 ml). Después de 20 h a ta, se añadió H₂O (1,0 ml) y la mezcla se acidificó con HCL acuoso 1 N (1,0 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 10 ml). Los extractos combinados se lavaron con salmuera (10 ml), a continuación se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre sílice (EtOAc → 25 % MeOH/ EtOAc, gradiente) dio 14,4 mg (87 %) del compuesto del título (**43**).

Ejemplo 18 (Referencia)

Éster isopropílico del ácido 5–(3–{(S)–1–[4–(1–hidroxi–hexil)–fenil]–5–oxo–pirrolidin–2–il]–propil)–tiofeno–2–carboxílico (**44**)

Se añadió DBU (5,2 µl, 0,035 mmol) a una disolución del ácido **43** (7,5 mg, 0,017 mmol) en acetona (0,1 ml) a ta en una atmósfera de nitrógeno. Después de 10 min, se añadió 2-yodopropano (35 µl, 0,35 mmol). Después de 21 h a ta, la reacción se interrumpió con HCl 0,01 N (3 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 4 ml). Los extractos combinados se lavaron con salmuera (5 ml), se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre sílice (CH₂Cl₂ → 1 % de MeOH/ CH₂Cl₂) dio 4,6 mg (53 %) del compuesto del título (**44**).

Ejemplo 19

Ácido 5-{3-[(S)-1-(4-hexanoil-fenil)-5-oxo-pirrolidin-2-il]-propil}-tiofeno-2-carboxílico (**46**)

Etapa 1. Oxidación de **38/39** para dar **39**

Se añadió DDQ (5,5 mg, 0,024 mmol) a la mezcla de éter **38** y cetona **39** del ejemplo 16, etapa 4 (6,8 mg, 0,012 mmol) en CH₂Cl₂ y agua (20:1, 0,25 ml) a ta en una atmósfera de nitrógeno. Después de 1,5 h, la reacción se interrumpió con NaHCO₃ acuoso saturado (5 ml). La mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 5 ml). Los extractos combinados se lavaron con salmuera (5 ml) a continuación se secó (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación del residuo por cromatografía de capa fina preparativa (60 % de EtOAc/ Hex) dio 1,5 mg (28 %) de la cetona deseada **39**.

Etapa 2. Hidrogenación de **39** para dar el éster **45**

Se añadió paladio sobre carbono (10 % en peso, 1 mg) a una disolución de alqueno **39** (1,5 mg, 0,0034 mmol) en metanol (0,5 ml). Se estableció una atmósfera de hidrógeno mediante evacuación y llenado de nuevo con hidrógeno (3 x) y la mezcla de reacción se agitó en una atmósfera de hidrógeno. Después de 2 h a ta, la mezcla de reacción se filtró a través de Celite, lavando con MeOH, y el filtrado se concentró al vacío para dar 1,3 mg (86 %) del éster **45** deseado.

Etapa 3. Saponificación de **45** para dar **46**

Se añadió esterasa de hígado de conejo (134 unidades/mg, 1 mg) a una disolución del éster **45** (1,3 mg, 0,0029 mmol) en MeCN (0,1 ml) y tampón de pH 7,2 (25 ml). Después de 23 h a ta, la reacción se diluyó con MeCN (10 ml) y se concentró al vacío. El residuo se suspendió en un 10 % de MeOH/ CH₂Cl₂ y se filtró a través de un tapón de algodón. El filtrado se concentró al vacío para dar 1,2 mg (95 %) del compuesto del título (**46**).

Ejemplo 20 (Referencia)

Ácido 5-[(R)-1-(4-hexanoil-fenil)-5-oxo-pirrolidin-2-ilmetoximetil]-tiofeno-2-carboxílico (**47**)

Se añadió esterasa de hígado de conejo (134 unidades/mg, 1 mg) a una disolución del éster **27** (Ejemplo 10, etapa 4, 6,6 mg, 0,014 mmol) en MeCN (0,1 ml) y tampón de pH 7,2 (2,5 ml). Después de 17 h a ta, la reacción se diluyó con MeCN (8 ml) y se concentró al vacío. La purificación del residuo por cromatografía de capa fina preparativa (4 % de MeOH/ CH₂Cl₂) dio 1 mg (17 %) del compuesto del título (**47**).

Ejemplos 21 y 22

Éster isopropílico del ácido 5-[(R)-1-[4-(1-hidroxi-hexil)-fenil]-5-oxo-pirrolidin-2-ilmetoximetil]-tiofeno-2-carboxílico (diastereómero de elución más rápida **48**) y éster isopropílico del ácido 5-[(R)-1-[4-(1-hidroxi-hexil)-fenil]-5-oxo-pirrolidin-2-ilmetoximetil]-tiofeno-2-carboxílico (diastereómero de elución más lenta **49**)

Los dos diastereómeros del ejemplo 10 (28, ~ 100 mg) se separaron en un instrumento Waters 600 HPLC empleando un detector Waters 2996 PDA y una columna Whatman Partisil® 10 M20/50, 22 mm x 500 mm (Cat. n.º 4232-220, Q.A. n.º 3TA02D80). Usando un 60 % de EtOAc/ Hex como eluyente y un caudal de 15 ml/min, el primer diastereómero (**48**, 32,8 mg aislados en total) se eluyó a los 55-60 min, y el segundo diastereómero (**49**, 52,6 mg aislados en total) se eluyó a los 61-70 min.

Ejemplo 23

Ácido 5-[(R)-1-[4-(1-hidroxi-hexil)-fenil]-5-oxo-pirrolidin-2-ilmetoximetil]-tiofeno-2-carboxílico (**50**)

Se añadió hidróxido de litio acuoso 1 N (0,05 ml, 0,05 mmol) a una disolución de diastereómero de éster de elución más rápida **48** (2,7 mg, 0,0057 mmol) en THF (0,1 ml) y la mezcla se calentó a reflujo durante una noche. Después de 17 h, la reacción se enfrió a ta, se acidificó con HCl acuoso 0,05 N (5 ml) y se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 5 ml). Los extractos combinados se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron al vacío para dar 2,5 mg (100 %) del compuesto del título (**50**).

Ejemplo 24

Ácido 5-[(R)-1-[4-(1-hidroxi-hexil)-fenil]-5-oxo-pirrolidin-2-ilmetoximetil]-tiofeno-2-carboxílico (**51**)

5 Se añadió hidróxido de litio acuoso 1 N (0,05 ml, 0,05 mmol) a una disolución de diastereómero de éster de elución más lenta **49** (2,8 mg, 0,0059 mmol) en THF (0,1 ml) y la mezcla se calentó a reflujo durante una noche. Después de 23 h, la reacción se enfrió a ta, se acidificó con HCL acuoso 0,05 N (5 ml) y se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 5 ml). Los extractos combinados se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron al vacío para dar 1,7 mg (67 %) del compuesto del título (**51**).

Ejemplos 25 y 26

Éster metílico del ácido 5-(3-((S)-1-[4-(1-hidroxi-hexil)-fenil]-5-oxo-pirrolidin-2-il)-propil)-tiofeno-2-carboxílico (diastereómero de elución más rápida **52**) y éster metílico del ácido 5-(3-((S)-1-[4-(1-hidroxi-hexil)-fenil]-5-oxo-pirrolidin-2-il)-propil)-tiofeno-2-carboxílico (diastereómero de elución más lenta **53**)

10 Los dos diastereómeros del ejemplo 17, etapa 1 (**42**, ~ 43 mg) se separaron en un instrumento Waters 600 HPLC empleando un detector Waters 2996 PDA y una columna Whatman Partisil® 10 M20/50, 22 mm x 500 mm (Cat. n.º 4232-220, Q.A. n.º 3TA02D80). Usando un 55 % de EtOAc/ Hex como eluyente y un caudal de 15 ml/min, el primer diastereómero (**52**, 16 mg) se eluyó a los 69-75 min, y el segundo diastereómero (**53**, 19 mg) se eluyó a los 80-88 min.

15 Ejemplo 27

Ácido 5-(3-((S)-1-[4-(1-hidroxi-hexil)-fenil]-5-oxo-pirrolidin-2-il)-propil)-tiofeno-2-carboxílico (**54**)

20 Se añadió esterasa de hígado de conejo (134 unidades/mg, 2 mg) a una disolución de diastereómero de éster de elución más rápida **52** (16 mg, 0,036 mmol) en MeCN (0,2 ml) y tampón de pH 7,2 (3,0 ml). Después de 18 h a ta, la reacción se diluyó con MeCN (10 ml) y se concentró al vacío. El residuo se diluyó con CH₂Cl₂ (5 ml), se filtró a través de un lecho de lana de vidrio y se concentró al vacío. La purificación del residuo por cromatografía de capa fina preparativa (EtOAc → 25 % de MeOH/ EtOAc, gradiente) dio 12 mg (77 %) del compuesto del título (**54**).

Ejemplo 28

Ácido 5-(3-((S)-1-[4-(1-hidroxi-hexil)-fenil]-5-oxo-pirrolidin-2-il)-propil)-tiofeno-2-carboxílico (55)

25 Se añadió esterasa de hígado de conejo (134 unidades/mg, 2 mg) a una disolución de diastereómero de éster de elución más lenta **53** (19 mg, 0,043 mmol) en MeCN (0,2 ml) y tampón de pH 7,2 (3,0 ml). Después de 18 h a ta, la reacción se diluyó con MeCN (10 ml) y se concentró al vacío. El residuo se diluyó con CH₂Cl₂ (5 ml), se filtró a través de un lecho de lana de vidrio y se concentró al vacío. La purificación del residuo por cromatografía de capa fina preparativa (EtOAc → 25 % de MeOH/ EtOAc, gradiente) dio 10,5 mg (57 %) del compuesto del título (55).

Ejemplo 29

30 Éster isopropílico del ácido 5-(3-((S)-1-[4-(1-hidroxi-hexil)-fenil]-5-oxo-pirrolidin-2-il)-propil)-tiofeno-2-carboxílico (**56**, a partir de **54** y **52**)

35 DBU (4,2 µl, 0,028 mmol) y 2-yodopropano (19 µl, 0,19 mmol) se añadieron a una disolución del ácido **54** (8 mg, 0,019 mmol) en acetona (0,15 ml) a ta en una atmósfera de nitrógeno. Después de 18 h a ta, el disolvente se retiró bajo una corriente de nitrógeno. El residuo se diluyó con EtOAc (10 ml) y se lavó con HCl 0,1 N (2 x 5 ml) y salmuera (5 ml), a continuación se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre sílice (CH₂Cl₂ → 25 % de MeOH/ CH₂Cl₂) dio 1,9 mg (22 %) del compuesto del título (**56**) y 4 mg (50 %) recuperados **54**.

Ejemplo 30

40 Éster isopropílico del ácido 5-(3-((S)-1-[4-(1-hidroxi-hexil)-fenil]-5-oxo-pirrolidin-2-il)-propil)-tiofeno-2-carboxílico (**57**, a partir de **55** y **53**)

45 DBU (4,7 µl, 0,031 mmol) y 2-yodopropano (21 µl, 0,21 mmol) se añadieron a una disolución del ácido **55** (9 mg, 0,021 mmol) en acetona (0,2 ml) a ta en una atmósfera de nitrógeno. Después de 18 h a ta, el disolvente se retiró bajo una corriente de nitrógeno. El residuo se diluyó con EtOAc (10 ml) y se lavó con HCl 0,1 N (2 x 5 ml) y salmuera (5 ml), a continuación se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre sílice (CH₂Cl₂ → 25 % de MeOH/ CH₂Cl₂) dio 2,0 mg (20 %) del compuesto del título (**57**) y 6 mg (67 %) recuperados **55**.

Ejemplo 31

Éster isopropílico del ácido 5-((R)-1-[4-(1-hidroxi-heptil)fenil]-5-oxo-pirrolidin-2-il)-metoximetil)-tiofeno-2-carboxílico (**61**)

50 Etapa 1. Arilación de **1** para dar **58**

5 Pd₂(dba)₃ (550 mg, 0,60 mmol), xantfos (1,04 g, 180 mmol) y Cs₂CO₃ (5,87 g, 18,0 mmol) se añadieron de forma secuencial a una disolución de amida **1** (3,45 g, 15,0 mmol) en 1,4-dioxano (100 ml). Una disolución de 1-(1-(4-metoxibenciloxi)heptil)-4-bromobenceno (preparación 4, 5,30 g, 13,54 mmol) en 1,4-dioxano (50 ml) se añadió mediante una cánula. La mezcla de reacción se purgó con nitrógeno, a continuación se calentó a reflujo durante una noche. Después de 17 h, la reacción se enfrió a ta y se filtró a través de Celite, lavando con CH₂Cl₂. El filtrado se concentró al vacío y el residuo se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (5 % → 35 % de EtOAc/ hexano, gradiente) para dar 5,26 g (72 %) del producto deseado **58**.

Etapa 2. Desprotección de **58** para dar **59**

10 Se añadió HF-piridina (8,8 ml) a una disolución de silil éter **58** (5,26 g, 9,74 mmol) en MeCN (50 ml) en una botella de plástico a 0 °C. Después de 45 min a 0 °C, la reacción se interrumpió con NaHCO₃ acuoso saturado (400 ml). La mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 200 ml). Los extractos combinados se lavaron con salmuera (200 ml), a continuación se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre sílice (CH₂Cl₂ → 5 % de MeOH/ CH₂Cl₂, gradiente) dio 3,9 g (94 %) del alcohol deseado **59** en forma de un sólido de color amarillo pálido.

15 Etapa 3. Alquilación de **59** para dar **60**

20 Un matraz de fondo redondo se cargó con hidruro de potasio (30 % en peso en aceite, 138 mg, 1,03 mmol). El material se lavó con hexanos (3 x 1 ml), a continuación se suspendió en THF (1 ml). La mezcla se enfrió a 0 °C y una disolución de alcohol **59** (339 mg, 0,80 mmol) en THF (1,5 ml) se añadió mediante una cánula. Después de 1 h a 0 °C, una disolución de 5-clorometiltiofeno-2-carboxilato de isopropilo (preparación 2, 174 mg, 0,80 mmol) en THF (1,5 ml) se añadió mediante una cánula. Se añadió yoduro de potasio (14 mg, 0,08 mmol) y la reacción se dejó calentar a ta. Después de 18 h, la reacción se interrumpió con NH₄Cl acuoso saturado (15 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 25 ml). Los extractos combinados se lavaron con salmuera (15 ml), a continuación se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (20 % → 75 % de EtOAc/ hexano, gradiente), seguido de cromatografía de capa fina preparativa (65 % de EtOAc/ hexano) dio 65 mg (14 %) del producto deseado **60**.

25 Etapa 4. Desprotección oxidativa de **60** para dar **61**

30 Se añadió DDQ (26 mg, 0,12 mmol) a una disolución de **60** (65 mg, 0,11 mmol) en CH₂Cl₂ (1,4 ml) y agua (0,07 ml) a 0 °C en una atmósfera de nitrógeno. Después de 40 min, la reacción se interrumpió con NaHCO₃ acuoso saturado (20 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 20 ml). Los extractos combinados se lavaron con salmuera (15 ml), a continuación se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (50 % → 75 % de EtOAc/ hexano, gradiente), seguido de cromatografía de capa fina preparativa (60 % de EtOAc/ hexano) dio 36 mg (69 %) del compuesto del título (**61**).

Ejemplos 32 y 33

35 Éster isopropílico del ácido 5-((R)-1-[4-(1-hidroxi-heptil)-fenil]-5-oxo-pirrolidin-2-ilmetoximetil)-tiofeno-2-carboxílico (diastereómero de elución más rápida **62**) y éster isopropílico del ácido 5-((R)-1-[4-(1-hidroxiheptil)-fenil]-5-oxo-pirrolidin-2-ilmetoximetil)-tiofeno-2-carboxílico (diastereómero de elución más lenta **63**)

40 Los dos diastereómeros del ejemplo 31 (**61**, ~ 36 mg) se separaron en un instrumento Waters 600 HPLC empleando un detector Waters 2996 PDA y una columna Whatman Partisil® 10 M20/50, 22 mm x 500 mm (Cat. n.º 4232-220, Q.A. n.º 3TA02D80). Usando un 60 % de EtOAc/ Hex como eluyente y un caudal de 15 ml/min, el primer diastereómero (**62**, 14,8 mg) se eluyó a los 50-56,5 min, y el segundo diastereómero (**63**, 16,4 mg) se eluyó a los 56,5-70 min.

Ejemplo 34

Ácido 5-((R)-1-[4-(1-hidroxi-heptil)-fenil]-5-oxo-pirrolidin-2-ilmetoximetil)-tiofeno-2-carboxílico (**64**)

45 Se añadió hidróxido de litio acuoso 1 N (0,05 ml, 0,05 mmol) a una disolución de diastereómero de éster de elución más rápida **62** (3,5 mg, 0,0072 mmol) en THF (0,1 ml) y la mezcla se calentó a reflujo durante una noche. Después de 18 h, la reacción se enfrió a ta, se diluyó con agua (2 ml), se acidificó con HCl acuoso 1,0 N (1 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 5 ml). Los extractos combinados se lavaron con salmuera (5 ml), se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron al vacío para dar 3,0 mg (94 %) del compuesto del título (**64**).

Ejemplo 35

50 Ácido 5-((R)-1-[4-(1-hidroxi-heptil)-fenil]-5-oxo-pirrolidin-2-ilmetoximetil)-tiofeno-2-carboxílico (**65**)

Se añadió hidróxido de litio acuoso 1 N (0,05 ml, 0,05 mmol) a una disolución de diastereómero de éster de elución más lenta **63** (3,5 mg, 0,0072 mmol) en THF (0,1 ml) y la mezcla se calentó a reflujo durante una noche. Después de 18 h, la reacción se enfrió a ta, se diluyó con agua (2 ml), se acidificó con HCl acuoso 1,0 N (1 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 5 ml). Los extractos combinados se lavaron con salmuera (5 ml), se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se

concentraron al vacío para dar 3,2 mg (99 %) del compuesto del título (**65**).

Ejemplo 36

Ácido 5-(3-((S)-1-[4-(1-hidroxi-heptil)-fenil]-5-oxo-pirrolidin-2-il)-propil)-tiofeno-2-carboxílico (**71**)

Etapa 1. Oxidación de **59** para dar el aldehído **66**

- 5 Clorhidrato de 1-(3-(dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida (EDCI, 1,43 g, 7,45 mmol) y DMSO (0,70 ml, 9,86 mmol) se añadieron de forma secuencial a una disolución de alcohol **59** (1,06 g, 2,48 mmol) en benceno (25 ml) a ta en una atmósfera de nitrógeno. Después de 10 min a ta, se añadió trifluoroacetato de piridinio (527 mg, 2,73 mmol). Después de 3 h a ta, la disolución se decantó con respecto al residuo oleoso y el residuo se lavó con benceno (3 x 15 ml). Las fases de benceno combinadas se concentraron al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre sílice (CH₂Cl₂ → 3 % Me-OH/ CH₂Cl₂, gradiente) dio 1,0 g (95 %) del aldehído deseado **66**.

Etapa 2. Metilación de **66** para dar el alqueno **67**

- 15 Se añadió el reactivo de Tebbe (0,5 M en THF, 7,0 ml, 3,5 mmol) a una disolución de aldehído **66** (1,0 g, 2,36 mmol) en THF (16 ml) a -40 °C en una atmósfera de nitrógeno. Después de 1 h a -40 °C, la reacción se interrumpió mediante la adición de NaOH 2 N acuoso (5,25 ml) y se agitó vigorosamente durante una noche con la adición de THF (20 ml). La mezcla se filtró a través de Celite, lavando con exceso de EtOAc. El filtrado se concentró al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre sílice (40 % de EtOAc/ Hex) dio 195 mg (20 %) del alqueno deseado **67**.

Etapa 3. Reacción de metátesis de **67** para dar el alqueno **68**

- 20 Se añadió catalizador de segunda generación de Grubbs (38 mg, 0,045 mmol) a una disolución de alqueno **67** (190 mg, 0,45 mmol) y 5-aliltiofeno-2-carboxilato de metilo (preparación 3, 173 mg, 0,95 mmol) en CH₂Cl₂ (2,4 ml). La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 2 h. La mezcla de reacción se enfrió a ta y más catalizador (9 mg, 0,011 mmol) y 5-aliltiofeno-2-carboxilato de metilo (165 mg, 0,91 mmol) se añadieron. La mezcla se calentó durante 22 h más a reflujo, a continuación se enfrió y se concentró al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre sílice (2 veces, usando en primer lugar un 5 % → 50 % de EtOAc/ Hex, gradiente a continuación usando en segundo lugar CH₂Cl₂ → 3 % de MeOH/ CH₂Cl₂, gradiente) dio 180 mg (69 %) del alqueno deseado **68**.

Etapa 4. Desprotección oxidativa de **68** para dar **69**

- 30 Se añadió DDQ (78 mg, 0,34 mmol) a una mezcla de **68** (180 mg, 0,31 mmol) en CH₂Cl₂ (4,1 ml) y agua (0,21 ml) a 0 °C en una atmósfera de nitrógeno. Después de 45 min a 0 °C, la reacción se interrumpió con NaHCO₃ acuoso saturado (50 ml). La mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 50 ml). Los extractos combinados se lavaron con salmuera (50 ml), a continuación se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre sílice (50 % → 66 % de EtOAc/ Hex, gradiente) dio 50 mg (35 %) del alcohol deseado **69**.

35 Etapa 5. Hidrogenación de **69** para dar el éster **70**

- 40 Se añadió paladio sobre carbono (10 % en peso, 12 mg) a una disolución de alqueno **69** (50 mg, 0,11 mmol) en metanol (2,3 ml). Se estableció una atmósfera de hidrógeno mediante evacuación y llenado de nuevo con hidrógeno (3 x) y la mezcla de reacción se agitó en una atmósfera de hidrógeno. Después de 20 h a ta, la mezcla de reacción se filtró a través de Celite, lavando con MeOH, y el filtrado se concentró al vacío para dar 50 mg (99 %) del éster **70** deseado.

Etapa 6. Saponificación de **70** para dar **71**

- 45 Se añadió hidróxido de litio 1 N acuoso (0,19 ml, 0,19 mmol) a una disolución del éster **70** (17 mg, 0,038 mmol) en THF (0,4 ml). Después de 18 h a ta, se añadió H₂O (1,0 ml) y la mezcla se acidificó con HCL acuoso 1 N (1,0 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 10 ml). Los extractos combinados se lavaron con salmuera (10 ml), a continuación se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación del residuo por cromatografía de capa fina preparativa (15 % Me-OH/ CH₂Cl₂) dio 5,6 mg (34 %) del compuesto del título (**71**).

Ejemplos 37 y 38

- 50 Éster metílico del ácido 5-(3-((S)-1-[4-(1-hidroxi-heptil)-fenil]-5-oxo-pirrolidin-2-il)-propil)-tiofeno-2-carboxílico (diastereómero de elución más rápida **72**) y éster metílico del ácido 5-(3-((S)-1-[4-(1-hidroxi-heptil)-fenil]-5-oxo-pirrolidin-2-il)-propil)-tiofeno-2-carboxílico (diastereómero de elución más lenta **73**)

Los dos diastereómeros del ejemplo 36, etapa 5 (**70**, ~ 34 mg) se separaron en un instrumento Waters 600 HPLC empleando un detector Waters 2996 PDA y una columna Whatman Partisil® 10 M20/50, 22 mm x 500 mm (Cat. n.º

4232-220, Q.A. n.º 3TA02D80). Usando un 55 % de EtOAc/ Hex como eluyente y un caudal de 15 ml/min, el primer diastereómero (**72**, 10,7 mg) se eluyó a los 78-87,5 min, y el segundo diastereómero (**73**, 7,0 mg) se eluyó a los 91-101 min.

Ejemplo 39

5 Ácido 5-(3-((S)-1-[4-(1-hidroxi-heptil)-fenil]-5-oxo-pirrolidin-2-il)-propil)-tiofeno-2-carboxílico (**74**)

Se añadió hidróxido de litio acuoso 1 N (0,12 ml, 0,12 mmol) a una disolución de diastereómero de éster de elución más rápida **72** (10,7 mg, 0,023 mmol) en THF (0,3 ml). Después de 66 h a ta, se añadió H₂O (1,0 ml) y la mezcla se acidificó con HCL acuoso 1 N (1,0 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 10 ml). Los extractos combinados se lavaron con salmuera (5 ml), a continuación se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron al vacío para dar 10 mg (96 %) del compuesto del título (**74**).

Ejemplo 40

15 Ácido 5-(3-((S)-1-[4-(1-hidroxi-heptil)-fenil]-5-oxo-pirrolidin-2-il)-propil)-tiofeno-2-carboxílico (**75**)

Se añadió hidróxido de litio acuoso 1 N (0,08 ml, 0,08 mmol) a una disolución de diastereómero de éster de elución más lenta **73** (7,0 mg, 0,015 mmol) en THF (0,2 ml). Después de 66 h a ta, se añadió H₂O (1,0 ml) y la mezcla se acidificó con HCL acuoso 1 N (1,0 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 8 ml). Los extractos combinados se lavaron con salmuera (5 ml), a continuación se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron al vacío para dar 6,5 mg (96 %) del compuesto del título (**75**).

Ejemplo 41

20 Éster isopropílico del ácido 5-(3-((S)-1-[4-(1-hidroxi-heptil)-fenil]-5-oxo-pirrolidin-2-il)-propil)-tiofeno-2-carboxílico (**76**, a partir de **74** y **72**)

DBU (4,0 µl, 0,027 mmol) y 2-yodopropano (36 µl, 0,36 mmol) se añadieron a una disolución del ácido **74** (8 mg, 0,018 mmol) en acetona (0,2 ml) a ta en una atmósfera de nitrógeno. Después de 72 h a ta, el disolvente se retiró bajo una corriente de nitrógeno. El residuo se diluyó con EtOAc (10 ml) y se lavó con HCl 0,5 N (2 x 5 ml) y salmuera (5 ml), a continuación se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre sílice (EtOAc → 20 % de MeOH/ EtOAc) dio 7,3 mg (83 %) del compuesto del título (**76**).

Ejemplo 42

30 Éster isopropílico del ácido 5-(3-((S)-1-[4-(1-hidroxi-heptil)-fenil]-5-oxo-pirrolidin-2-il)-propil)-tiofeno-2-carboxílico (**77**, a partir de **75** y **73**)

DBU (2,5 µl, 0,017 mmol) y 2-yodopropano (22,5 µl, 0,225 mmol) se añadieron a una disolución del ácido **75** (5 mg, 0,011 mmol) en acetona (0,11 ml) a ta en una atmósfera de nitrógeno. Después de 72 h a ta, el disolvente se retiró bajo una corriente de nitrógeno. El residuo se diluyó con EtOAc (10 ml) y se lavó con HCl 0,5 N (2 x 5 ml) y salmuera (5 ml), a continuación se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre sílice (EtOAc → 20 % de MeOH/ EtOAc) dio 3,2 mg (58 %) del compuesto del título (**77**).

Ejemplo 43

Ácido 4-((R)-1-[4-(1-hidroxi-hexil)-fenil]-5-oxo-pirrolidin-2-ilmetoxi)-benzoico (80)

40 Etapa 1. Reacción de Mitsunobu de **25** y 4-hidroxibenzoato de metilo para dar **78**. Se añadió azodicarboxilato de diisopropilo (DIAD, 194 µl, 1,0 mmol) a una disolución de alcohol **25** (200 mg, 0,49 mmol), trifenilfosfina (191 mg, 0,73 mmol) y 4-hidroxibenzoato de metilo

(87 mg, 0,57 mmol) en CH₂Cl₂ (2,5 ml). Después de agitar 18 h a ta, el disolvente se retiró en una corriente de nitrógeno y el residuo se suspendió en EtOAc (75 ml). La mezcla se lavó con NaHCO₃ acuoso saturado (3 x 25 ml) y salmuera (25 ml), a continuación la fase orgánica se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (50 % de EtOAc/ hexano → EtOAc, gradiente) dio 81 mg (31 %) del éter deseado **78**.

Etapa 2. Desprotección oxidativa de **78** para dar **79**

50 Se añadió DDQ (37 mg, 0,16 mmol) a una mezcla de **78** (81 mg, 0,15 mmol) en CH₂Cl₂ (2,0 ml) y agua (0,1 ml) a 0 °C en una atmósfera de nitrógeno. Después de 45 min a 0 °C, la reacción se interrumpió con NaHCO₃ acuoso saturado (25 ml). La mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 25 ml). Los extractos combinados se lavaron con salmuera (25 ml), a continuación se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre sílice (85 % de EtOAc/ Hex → EtOAc, gradiente) dio 31 mg (49 %) del

alcohol deseado **79**.

Etapa 3. Saponificación de 79 para dar 80

5 Se añadió hidróxido de litio 1 N acuoso (0,35 ml, 0,35 mmol) a una disolución del éster **79** (30 mg, 0,071 mmol) en THF (0,7 ml). Después de 20 h a ta, se añadió agua (2,0 ml) y la mezcla se acidificó con HCl acuoso 1 N (1,5 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 10 ml). Los extractos combinados se lavaron con salmuera (10 ml), a continuación se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación del residuo por cromatografía de columna ultrarrápida sobre sílice (EtOAc → 10 % de MeOH/ EtOAc, gradiente) dio 115 mg (38 %) del éster de partida 79 y 8,5 mg (29 %) del compuesto del título (80).

Preparación 1 (Referencia)

10 1-(1-(4-metoxibenciloxi-hexil)-4-bromobenceno

Etapa 1. Adición de grignard de pentilo a 4-bromobenzaldehído

15 Se añadió n-bromuro de pentil-magnesio (2,0 M en THF, 27 ml, 54 mmol) a una disolución de 4-bromobenzaldehído (5,0 g, 27 mmol) en THF (20 ml) a 0 °C en una atmósfera de nitrógeno. Después de 1 h, la reacción se interrumpió con HCl 3 N y se extrajo con Et₂O (3 x 120 ml). Los extractos combinados se lavaron con salmuera (100 ml), se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (5 % de EtOAc/ Hex) dio 5,1 g (74 %) de 1-(4-bromofenil)-hexan-1-ol.

Etapa 2. Protección del alcohol como su MPM éter

20 Se añadió hidruro de sodio (60 % en peso en aceite, 0,95 g, 23,8 mmol) a una disolución del alcohol a partir de la etapa 1 (05,11 g, 19,9 mmol) en THF y DMF (2:1, 20 ml) a 0 °C en una atmósfera de nitrógeno. Después de 1 h a 0 °C, 4-metoxibencilo cloruro (3,23 ml, 23,8 mmol) y la reacción se dejó calentar a ta. La reacción a continuación se calentó a 80 °C. Después de 17 h, la reacción se dejó enfriar a ta, se inactivó con NH₄Cl acuoso saturado (100 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 100 ml). Los extractos combinados se lavaron con salmuera (100 ml), se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (2 % de EtOAc/ Hex) dio 7,02 g (94 %) del compuesto del título.

Preparación 2 (Referencia)

5-clorometiltiofeno-2-carboxilato de isopropilo

Etapa 1. Preparación del éster bis-isopropílico

30 DBU (31,3 ml, 209 mmol) y 2-yodopropano (20,9 ml, 209 mmol) se añadieron a una disolución de ácido tiofeno-2,5-dicarboxílico (6,0 g, 34,9 mmol) en acetona (60 ml) a ta en una atmósfera de nitrógeno. Después de 21 h a ta, la reacción se interrumpió con NaHCO₃ acuoso saturado (300 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 150 ml). Los extractos combinados se lavaron con salmuera (200 ml), se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron al vacío para dar 7,59 g (85 %) del diéster.

Etapa 2. Reducción al éster hidroximetílico

35 Se añadió borohidruro de sodio (3,36 g, 88,8 mmol) a una disolución del diéster (7,59 g, 29,6 mmol) en CH₂Cl₂/ MeOH (1:1, 100 ml) a 0 °C en una atmósfera de nitrógeno. El baño de hielo se retiró y la reacción se dejó en agitación a ta durante una noche. Después de 20,5 h a ta, la reacción se concentró al vacío, a continuación se añadió acuoso HCl 0,5 N (100 ml). La mezcla se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 100 ml). Los extractos combinados se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron al vacío.

40 La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre sílice (5 % → 60 % de EtOAc/ Hex, gradiente) dio 738 mg (12 %) del alcohol.

Etapa 3. Conversión del alcohol al cloruro

45 Cloruro de metanosulfonilo (0,67 ml, 8,1 mmol) y trietilamina (1,7 ml, 12,2 mmol) se añadieron de forma secuencial y gota a gota a una disolución del alcohol (696 mg, 3,48 mmol) en CH₂Cl₂ (4,0 ml) a 0 °C en una atmósfera de nitrógeno. El baño de hielo se retiró y la reacción se dejó en agitación durante una noche a ta. Después de 17 h, la reacción se interrumpió con NaHCO₃ acuoso saturado (30 ml) y se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 30 ml). Los extractos combinados se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación del residuo por cromatografía ultrarrápida sobre sílice (59 % de EtOAc/ Hex) dio 664 mg (87 %) del compuesto del título.

Preparación 3 (Referencia)

50 5-aliltiofeno-2-carboxilato de metilo

Etapa 1. Preparación del éster metílico

5 Se añadió cloruro de acetilo (69 ml, 96,6 mmol) a una disolución de ácido 5-bromo-2-tiofenocarboxílico (4,0 g, 19,3 mmol) en metanol (30 ml) a ta. Después de 17 h a ta, la reacción se calentó a reflujo durante 1,5 h para conducir ésta a su finalización. A continuación, la reacción se enfrió a ta y se concentró al vacío para retirar el metanol. Se añadió NH₄Cl acuoso saturado (120 ml) y la mezcla se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 100 ml). Los extractos combinados se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron al vacío para dar 3,57 g (84 %) del éster metílico deseado en forma de un sólido de color blanquecino.

Etapa 2. Alilación del bromotiofeno

10 Se añadió cloruro de isopropil-magnesio (2,0 M en Et₂O, 8,9 ml, 17,8 mmol) a una disolución del bromuro a partir de la etapa 1 (3,36 g, 16,1 mmol) en THF (10 ml) a -40 °C en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se agitó a -40 °C durante 1 h, a continuación cianuro de cobre (I) (144 mg, 1,61 mmol) y bromuro de alilo (3,0 ml, 35,4 mmol) se añadieron de forma secuencial. La mezcla de reacción se agitó a -40 °C durante 1 h, a continuación se inactivó con NH₄Cl acuoso saturado (100 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 100 ml). Los extractos combinados se lavaron con salmuera (100 ml), se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (5 % de EtOAc/ Hex) dio 2,45 g (83 %) del compuesto del título en forma de un aceite de color amarillo pálido que solidificó después de un periodo de reposo.

Preparación 4 (Referencia)

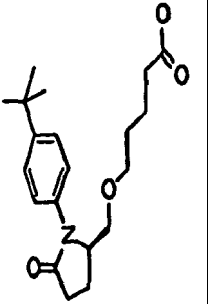
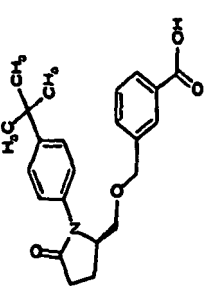
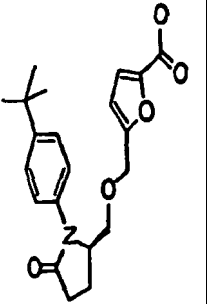
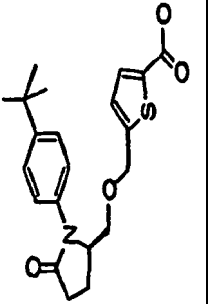
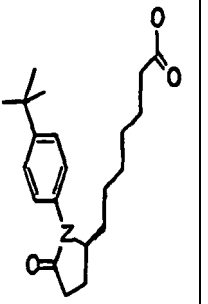
1-(1-(4-metoxibenciloxi)-heptil)-4-bromobenceno

Etapa 1. Adición de grignard de hexilo a 4-bromobenzaldehído

20 Se añadió bromuro de n-hexil-magnesio (2,0 M en Et₂O, 27 ml, 54 mmol) a una disolución de 4-bromobenzaldehído (3,0 g, 27 mmol) en THF (20 ml) a 0 °C en una atmósfera de nitrógeno. Después de 15 h a 0 °C, la reacción se interrumpió lentamente con HCl 3 N (20 ml) y se concentró al vacío. El residuo se diluyó con agua (30 ml) y se extrajo con Et₂O (3 x 150 ml). Los extractos combinados se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (5 % → 10 % de EtOAc/ Hex) dio 5,6 g (76 %) de 1-(4-bromofenil)-heptan-1-ol.

Etapa 2. Protección del alcohol como su MPM éter

30 Se añadió hidruro de sodio (60 % en peso en aceite, 0,991 g, 24,8 mmol) a una disolución del alcohol a partir de la etapa 1 (5,6 g, 20,6 mmol) en THF y DMF (2:1, 30 ml) a 0 °C en una atmósfera de nitrógeno. Después de 5 min a 0 °C, la reacción se dejó calentar a ta y se añadió 4-metoxibencilo cloruro (3,4 ml, 25,0 mmol). La reacción se calentó a continuación a 80 °C. Después de 18 h a 80 °C, la reacción se dejó enfriar a ta, se inactivó con NH₄Cl acuoso saturado (50 ml) y se concentró al vacío. El resto se extrajo con EtOAc (3 x 100 ml). Los extractos combinados se lavaron con agua (2 x 100 ml) y salmuera (75 ml), a continuación se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (2 % de EtOAc/ Hex) dio 7,5 g (93 %) del compuesto del título.

Ejemplo n.º	Estructura	datos de EP2				datos de EP4		Otros Receptores (EC50 en nM)								
		flpr EC50	cAMP EC50	KI	Ki pH 6,0	flpr EC50	KI	hFP	hEP ₁	hEP _{3A}	hTP	hIP	hDP			
1		> 10.000		NA		> 10.000	> 10.000									
2		> 10.000		NA		> 10.000	> 10.000									
3		442	28	4.000	189	> 10.000	> 10.000	NA	NA	> 10.000	NA	NA	NA	NA	1.921	
4		1.343	51	501	27	> 10.000	> 10.000	NA	> 10.000	19.234	> 10.000	NA	NA	NA	2.323	
5		4.121	548	> 10.000		> 10.000	> 10.000	NA	> 10.000	19.544	NA	NA	NA	NA	> 10.000	

(continuación)

Ejemplo n.º	Estructura	datos de EP2				datos de EP4		Otros Receptores (EC50 en nM)						
		flpr EC50	cAMP EC50	KI	Ki pH 6,0	flpr EC50	KI	hFP	hEP ₁	hEP _{3A}	hTP	hIP	hDP	
6		388	26	2.028		NA	> 10.000	NA	NA	1.927	NA	NA	NA	NA
7		7.669	1.218	> 10.000		NA	> 10.000	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
8		1.228	148	2.293		NA	> 10.000	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
9		8	3	115		> 10.000	> 10.000	NA	NA	403	NA	NA	NA	3.233

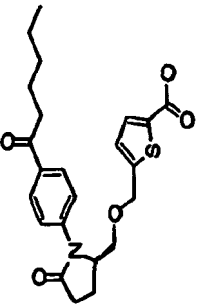
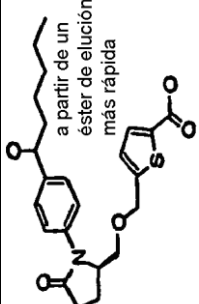
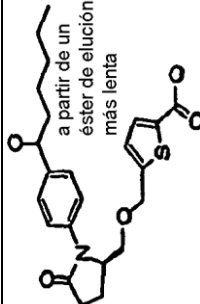
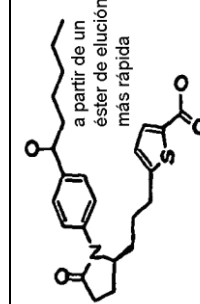
(continuación)

Ejemplo n.º	Estructura	datos de EP2				datos de EP4		Otros Receptores (EC50 en nM)								
		flpr EC50	cAMP EC50	KI	Ki pH 6,0	flpr EC50	KI	hFP	hEP ₁	hEP _{3A}	hTP	hIP	hDP			
11		> 10.000	517	NA		NA	> 10.000	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
12		212	8	387		NA	> 10.000	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
13		20	1,5	190		NA	> 10.000	NA	NA	519	NA	NA	NA	NA	5.763	NA
14		426	27	1.639		NA	> 10.000	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA

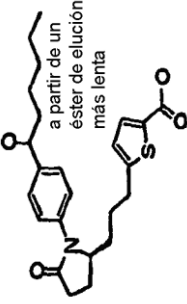
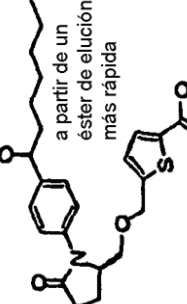
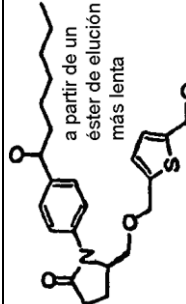
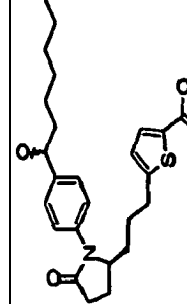
(continuación)

Ejemplo n.º	Estructura	datos de EP2				datos de EP4		Otros Receptores (EC50 en nM)					
		flpr EC50	cAMP EC50	KI	Ki pH 6,0	flpr EC50	KI	hFP	hEP ₁	hEP _{3A}	hTP	hIP	hDP
15		1.812	312	5.731		> 10.000	> 10.000	NA	NA	NA	NA	NA	7.560
16		226	15	1.382		NA	> 10.000	NA	NA	1.411	NA	NA	NA
17		5	0,55	23		NA	> 10.000	NA	NA	155	NA	NA	1.234
19		16	1,6	31		> 10.000	> 10.000	NA	NA	2.345	NA	NA	7.695

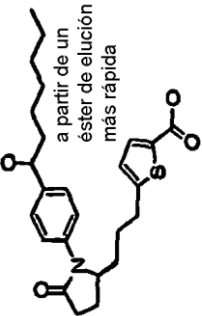
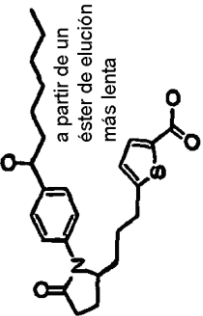
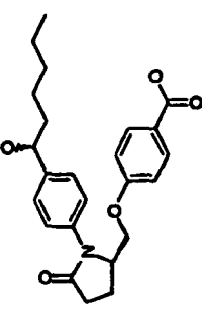
(continuación)

Ejemplo n.º	Estructura	datos de EP2				datos de EP4		Otros Receptores (EC50 en nM)					
		filpr EC50	cAMP EC50	Ki	Ki pH 6,0	filpr EC50	Ki	hFP	hEP ₁	hEP _{3A}	hTP	hIP	hDP
20		215	8	163		NA	> 10.000	NA	NA	NA	NA	NA	NA
23		62	5	345		> 10.000	> 10.000	NA	NA	153	NA	NA	7.749
24		15	1,5	116		> 10.000	6.032	NA	NA	1.205	NA	NA	6.800
27		6	0,19	21		> 10.000	> 10.000	NA	NA	12	NA	NA	812

(continuación)

Ejemplo n.º	Estructura	datos de EP2				datos de EP4		Otros Receptores (EC50 en nM)					
		flpr EC50	cAMP EC50	KI	Ki pH 6,0	flpr EC50	KI	hFP	hEP ₁	hEP _{3A}	hTP	hIP	hDP
28	 <p>a partir de un éster de elución más lenta</p>	1,6	0,15	15		> 10.000	4.849	NA	156	NA	NA	NA	296
34	 <p>a partir de un éster de elución más rápida</p>	134	7	229		NA	3.842	NA	71	NA	NA	NA	6.829
35	 <p>a partir de un éster de elución más lenta</p>	49	4	201		NA	3.288	NA	621	NA	NA	NA	NA
36		30	0,9	10		> 10.000		NA	47	NA	NA	NA	105

(continuación)

Ejemplo n.º	Estructura	datos de EP2				datos de EP4		Otros Receptores (EC50 en nM)					
		flpr EC50	cAMP EC50	KI	Ki pH 6,0	flpr EC50	KI	hFP	hEP ₁	hEP _{3A}	hTP	hIP	hDP
39	 <p>a partir de un éster de elución más rápida</p>	16	1,4	12		NA	NA	NA	6.952	7	NA	NA	37
40	 <p>a partir de un éster de elución más lenta</p>	5	0,6	8		NA	NA	NA	NA	33	NA	> 10.000	106
43		7.284	NA	22.726		NA	8.752	NA	NA	NA	NA	NA	NA

Procedimientos de ensayo biológico**Datos de unión****K_i**

5 Los experimentos de unión de competición se realizaron en un medio que contiene soluciones salinas equilibradas de Hank, Hepes 20 mM, pH 7,3, membranas (~ 60 µg de proteína) o 2 x 10⁵ células a partir de células de HEK-293 que expresan de forma estable los receptores de EP₂ humanos, [³H] PGE₂ (10 nM) y varias concentraciones de compuestos de prueba en un volumen total de 300 µl. Las mezclas de reacción se incubaron a 23 °C durante 60 min, y se filtraron a través de filtros de Whatman GF/B al vacío. Los filtros se lavaron tres veces con 5 ml de tampón helado que contiene Tris/HCl 50 mM (pH 7,3). La unión no específica se estimó en presencia de PGE₂ no marcado en exceso (10 µM). Los datos de unión se ajustaron al modelo de unión para una única clase de sitios de unión, usando un análisis de regresión no lineal. Los valores de CI₅₀ que se obtuvieron de este modo se convirtieron a K_i usando la ecuación de K_i = (CI₅₀/(1 + [L]/K_D)), en la que [L] representa la concentración de PGE₂ (10 nM) y K_D la constante de disociación para [³H] PGE₂ en receptores de EP₂ humanos (40 nM).

Unión de radioligando**15 Células que expresan de forma estable los receptores de EP₁, EP₂, EP₄ y FP**

Las células de HEK-293 que expresan de forma estable el receptor de FP humano o felino, o los receptores EP₁, EP₂, o EP₄ se lavaron con tampón de TME, se rascaron del fondo de los matraces y se homogeneizaron durante 30 s usando un politrón Brinkman PT 10/35. Se añadió tampón de TME para conseguir un volumen final de 40 ml en los tubos centrifugos (la composición de TME es base TRIS 100 mM, MgCl₂ 20 mM, EDTA 2 M; se añade HCl 10 N para obtener un pH de 7,4).

El homogeneizado celular se centrifugó a 19.000 r.p.m. durante 20 min a 4 °C usando un rotor Beckman Ti-60. El sedimento resultante se resuspendió en tampón de TME para dar una concentración final de 1 mg/ml de proteína, según se determina mediante un ensayo de Biorad. Se realizaron ensayos de competición de unión de radioligando frente a [³H] 17-fenilo PGF_{2α} (5 nM) en un volumen de 100 µl durante 60 min. Las reacciones de unión se iniciaron añadiendo una fracción de membrana de plasma. La reacción se finalizó mediante la adición de 4 ml de tampón de TRIS-HCl helado y filtración rápida a través de filtros GF/B de fibra de vidrio usando un recolector de células Brandel. Los filtros se lavaron 3 veces con tampón helado y se secaron en el horno durante una hora.

Se usó [³H] PGE₂ (actividad específica 180 Ci mmol) como el radioligando para los receptores de EP. Se empleó [³H] 17-fenilo PGF_{2α} para los estudios de unión de receptor de FP. Se realizaron estudios de unión empleando receptores de EP₁, EP₂, EP₄ y FP por duplicado en al menos tres experimentos separados. Se usó un volumen de ensayo de 200 µl. Las incubaciones se realizaron durante 60 min a 25 °C y se finalizaron mediante la adición de 4 ml de TRIS-HCl 50 mM helado, seguido de filtración rápida a través de filtros de Whatman GF/B y tres lavados de 4 ml adicionales en un recolector de células (Brandel). Los estudios de competición se realizaron usando una concentración final de 5 nM de [³H]-PGF_{2α}, o 5 nM de [³H] 17-fenilo PGF_{2α} y la unión no específica se determinó con 10⁻⁵ M de PGE₂ no marcado, o 17-fenilo PGF_{2α}, de acuerdo con el subtipo de receptor estudiado.

PROCEDIMIENTOS PARA LOS ESTUDIOS CON FLIPR™**(a) CULTIVO CELULAR**

Las células de HEK-293 (EBNA), que expresan de forma estable un tipo o subtipo de los receptores de prostaglandina humana recombinante (receptores de prostaglandina expresados: hDP/ Gqs5; hEP₁; hEP₂/ Gqs5; hEP_{3A}/ Gqi5; hEP₄/ Gqs5; hFP; hIP; hTP), se cultivaron en placas de cultivo de 100 mm en un medio DMEM de alto contenido en glucosa, que contiene un 10 % de suero bovino fetal, 2 mM de 1-glutamina, 250 µg/ml de geneticina (G418) y 200 µg/ml de higromicina B como marcadores de selección, y 100 unidades/ml de penicilina G, 100 µg/ml de estreptomocina y 0,25 µg/ml de amfotericina B.

(b) ESTUDIOS DE SEÑAL DE CALCIO SOBRE EL FLIPR™

45 Las células se sembraron a una densidad de 5 x 10⁴ células por pocillo en placas de 96 pocillos de fondo transparente, de paredes negras, recubiertas de poli-D-lisina, de Biocoat® (Becton-Dickinson) y se permitió que se fijaran durante una noche en una incubadora a 37 °C. Las células se lavaron a continuación dos veces con un tampón de HBSS-HEPES (Solución Salina Equilibrada de Hanks, sin bicarbonato y rojo de fenol, HEPES 20 mM, pH 7,4) usando un lavador de placas Denley Cellwash (Labsystems). Después de 45 minutos de carga con colorante en la oscuridad, usando el colorante sensible a calcio Fluo-4 AM a una concentración final de 2 µM, las placas se lavaron cuatro veces con tampón HBSS-HEPES para retirar el exceso de colorante, dejando 100 µl en cada pocillo. Las placas se equilibraron de nuevo a 37 °C durante unos pocos minutos.

Las células se excitaron con un láser de argón a 488 nm, y la emisión se midió a través de un filtro de emisión con un ancho de banda de 510-570 nm (FLIPR™, Molecular Devices, Sunnyvale, CA). La solución de fármaco se

añadió en un volumen de 50 μ l a cada pocillo para dar la concentración final deseada. El aumento de pico en la intensidad de fluorescencia se registró para cada pocillo. En cada placa, cuatro pocillos, cada uno de los cuales servía como controles negativos (tampón HBSS–HEPES) y positivos (agonistas convencionales: BW245C (hDP); PGE₂ (hEP₁; hEP₂/ Gqs5; hEP_{3A}/ Gqi5; hEP₄/ Gqs5); PGF_{2 α} (hFP); carbaciclina (hIP); U–46619 (hTP), dependiendo del receptor). El cambio en el pico de fluorescencia en cada pocillo que contiene fármaco se expresó a continuación en relación con los controles.

Los compuestos se ensayaron en un formato de alta capacidad de producción (HTS) o de concentración–respuesta (CoRe). En el formato HTS, se examinaron cuarenta y cuatro compuestos por placa, por duplicado, a una concentración de 10⁻⁵ M. Para generar curvas de concentración–respuesta, se ensayaron cuatro compuestos por placa, por duplicado, en un intervalo de concentración entre 10⁻⁵ y 10⁻¹¹ M. Los valores duplicados se promediaron. En cualquiera de los formatos HTS o CoRe, cada compuesto se ensayó al menos en 3 placas diferentes, usando células de diferente pasadas, dando un n \geq 3.

Presión Intraocular (PIO)

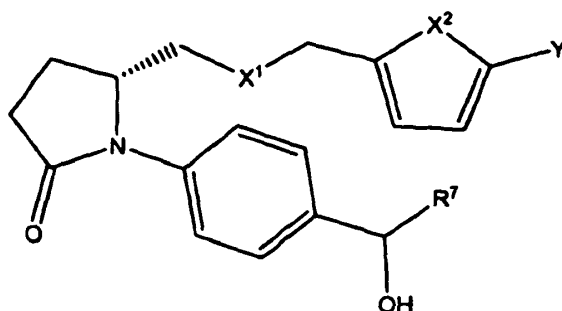
Los estudios de presión intraocular en perros implicaron neumatonometría realizada en perros Beagle conscientes, de ambos sexos (10–15 kg). Los animales permanecieron conscientes a lo largo de todo el estudio y se contuvieron suavemente con la mano. Los fármacos se administraron por vía tópica a un ojo en forma de una gota de 25 μ l de volumen, recibiendo el otro ojo 25 μ l de vehículo (polisorbato al 0,1% en TRIS 80:10 mM) como un control. Se usó proparacaína (0,1%) para la anestesia corneana durante la tonometría. La presión intraocular se determinó justo antes de la administración del fármaco y a las 2, 4 y 6 h posteriores en cada día de los 5 días del estudio. El fármaco se administró inmediatamente después de la primera lectura de PIO.

Los resultados de los estudios de unión y de actividad, que se presentan en la Tabla 1 a continuación, muestran que los compuestos que se dan a conocer en el presente documento son agonistas de prostaglandina EP₂ selectivos, y son por lo tanto útiles para el tratamiento del glaucoma, la hipertensión ocular, la enfermedad inflamatoria del intestino, y los otros estados o enfermedades que se dan a conocer en el presente documento.

La descripción anterior detalla composiciones y procedimientos específicos que pueden emplearse para poner en práctica la presente invención, y representa el mejor modo contemplado. Sin embargo, es evidente para el experto en la técnica que pueden prepararse compuestos adicionales con las propiedades farmacológicas deseadas de una forma similar, y que los compuestos que se dan a conocer pueden obtenerse también a partir de compuestos de partida diferentes, a través de reacciones químicas diferentes. De forma análoga, pueden prepararse y usarse unas composiciones farmacéuticas diferentes, sustancialmente con el mismo resultado. Por lo tanto, con independencia de lo detallado que pueda parecer lo anterior en el texto, no debe interpretarse como limitante del alcance global del presente documento; en su lugar, el ámbito de la presente invención ha de regirse sólo por la construcción legal de las reivindicaciones adjuntas.

REIVINDICACIONES

1. Compuesto de fórmula:



o una sal farmacéuticamente aceptable, profármaco, o un metabolito del mismo,

5 en la que Y es un grupo funcional ácido orgánico, o una amida o éster del mismo que comprende hasta 12 átomos de carbono; o Y es hidroximetilo o un éter del mismo que comprende hasta 12 átomos de carbono; o Y es un grupo funcional tetrazolilo;

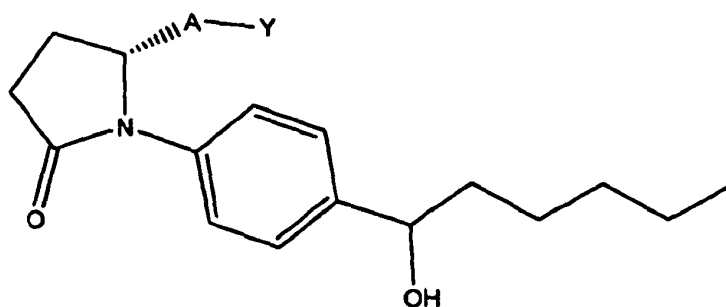
X¹ y X² son independientemente CH, O, o S; y

R⁷ es un alquilo lineal que comprende de 3 a 7 átomos de carbono.

10 2. El compuesto:

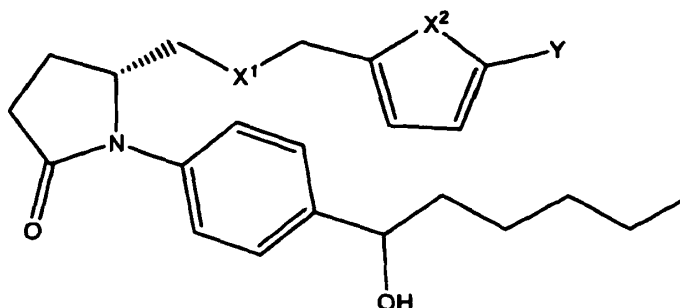
ácido 5-{3-[(S)-1-(4-hexanoil-fenil)-5-oxo-pirrolidin-2-il]-propil}-tiofeno-2-carboxílico.

3. Compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende:



o una sal farmacéuticamente aceptable, profármaco, o un metabolito del mismo.

15 4. Compuesto de acuerdo con la reivindicación 3, que comprende



o una sal farmacéuticamente aceptable, profármaco, o un metabolito del mismo, en la que X¹ y X² son independientemente CH, O, o S.

5. Compuesto de acuerdo con la reivindicación 4, en el que:

20 X¹ es O, X² es S e Y es éster isopropílico;

X¹ es O, X² es S e Y es ácido carboxílico;

X¹ es CH, X² es S e Y es éster metílico;

X¹ es CH, X² es S y

Y es ácido carboxílico; o

X¹ es CH, X² es S e Y es éster isopropílico;

- 5 6. Una composición que comprende un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicha composición es un líquido que es oftálmicamente aceptable.
7. Compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, para su uso en un tratamiento médico.
8. Compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, para su uso en un procedimiento de tratamiento de la enfermedad inflamatoria del intestino, del glaucoma o de la hipertensión ocular.

Fig. 1

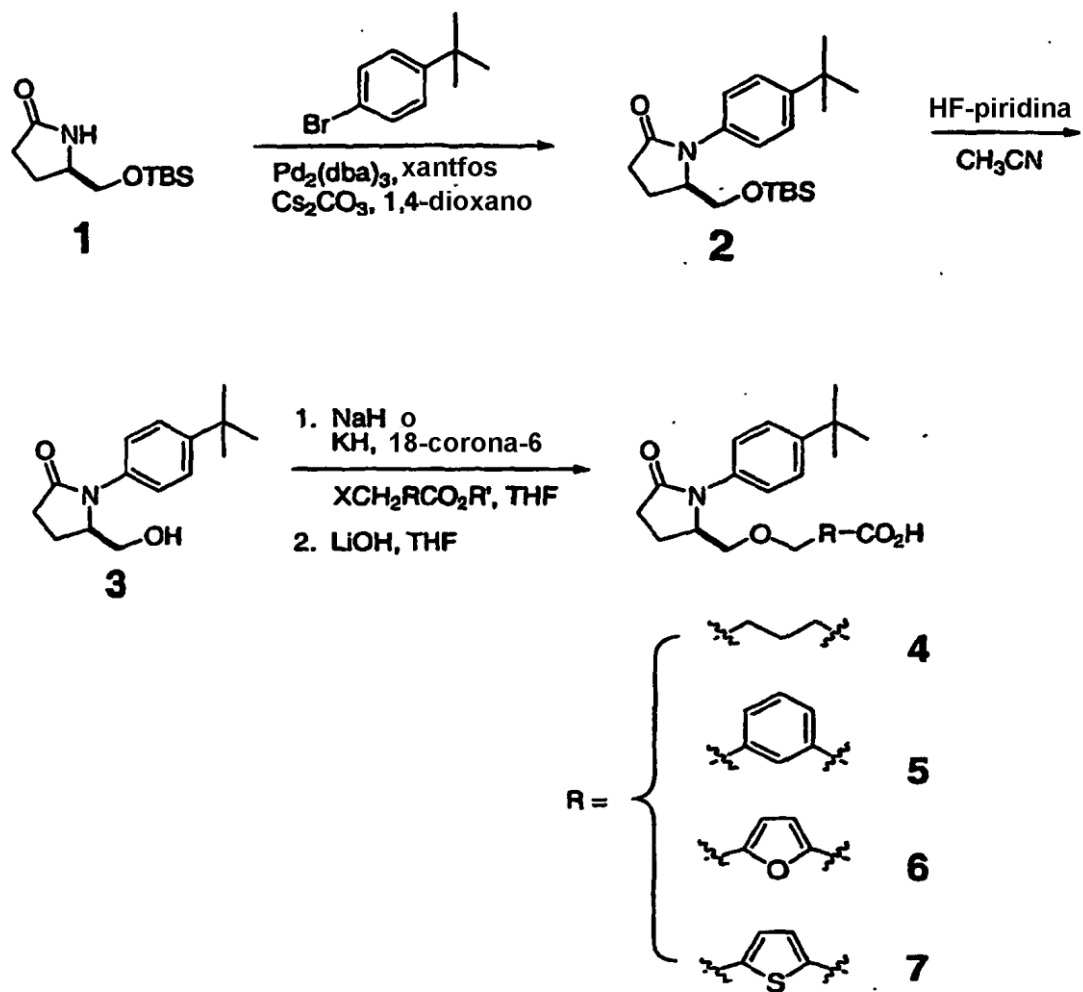


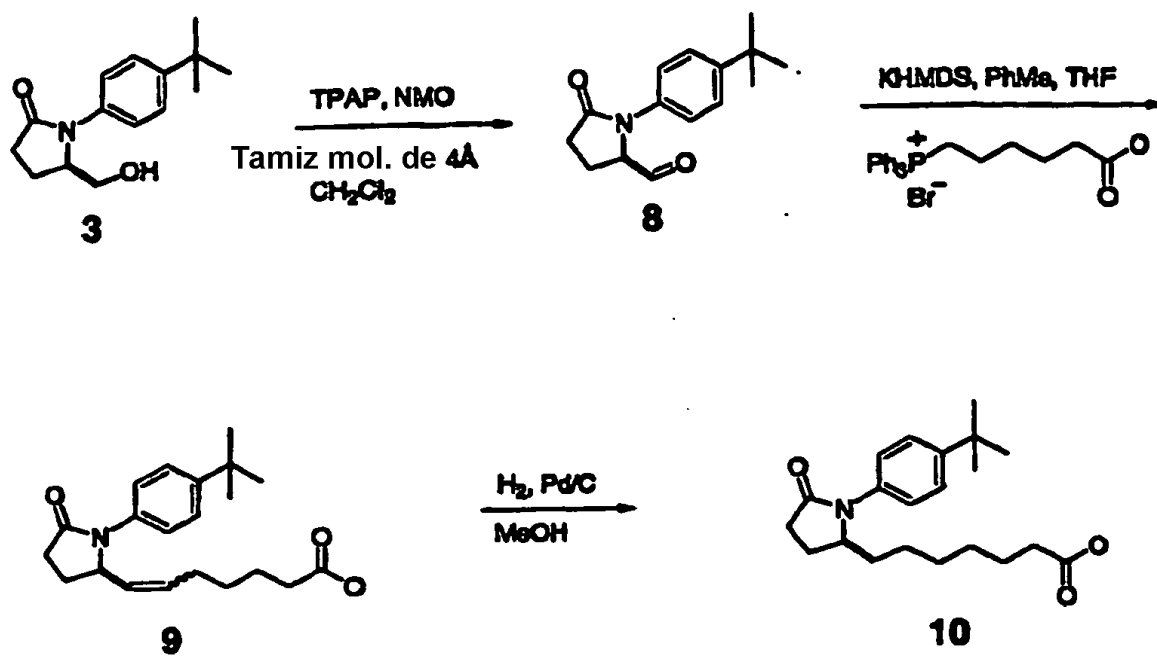
Fig. 2

Fig. 3

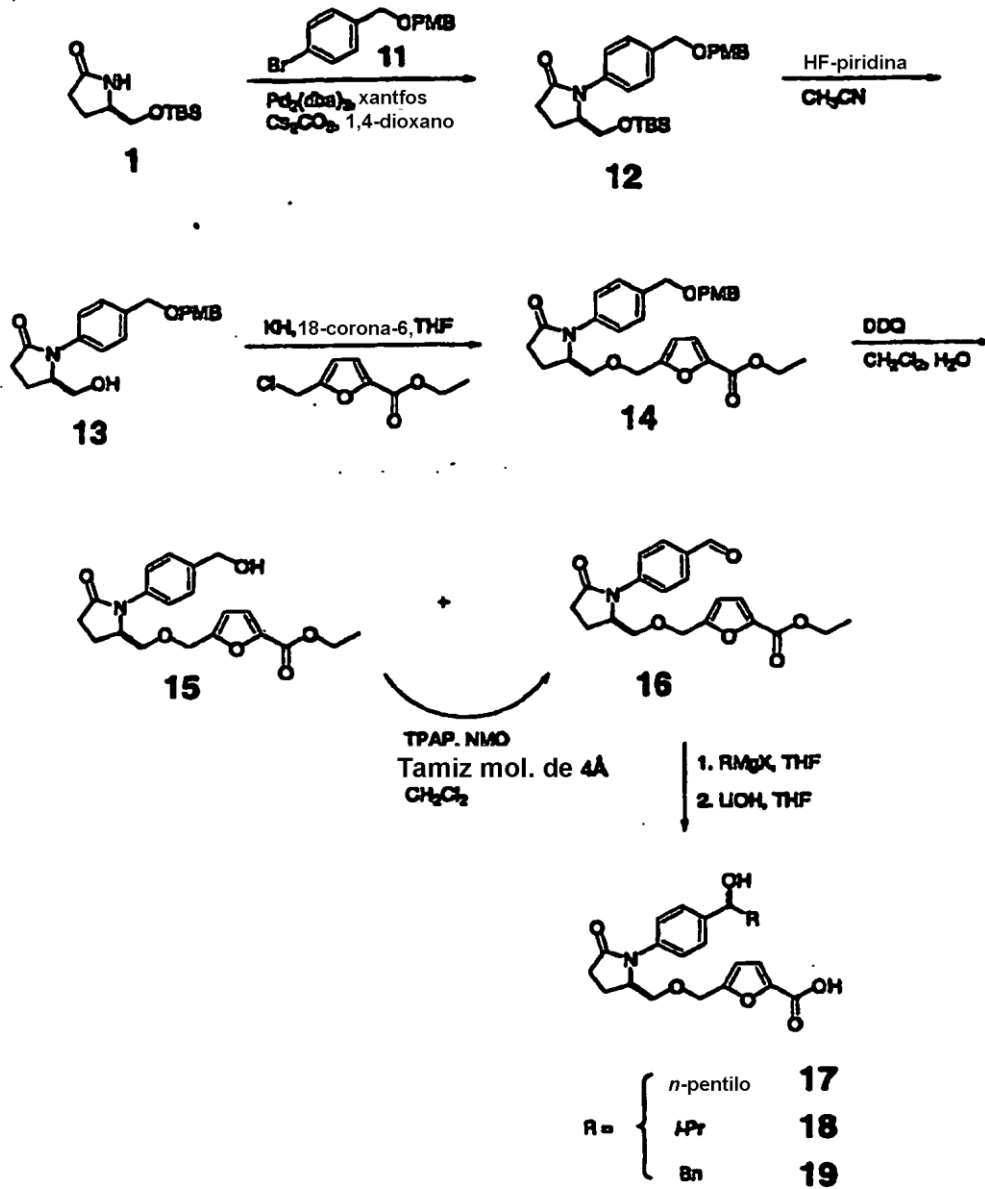


Fig. 4

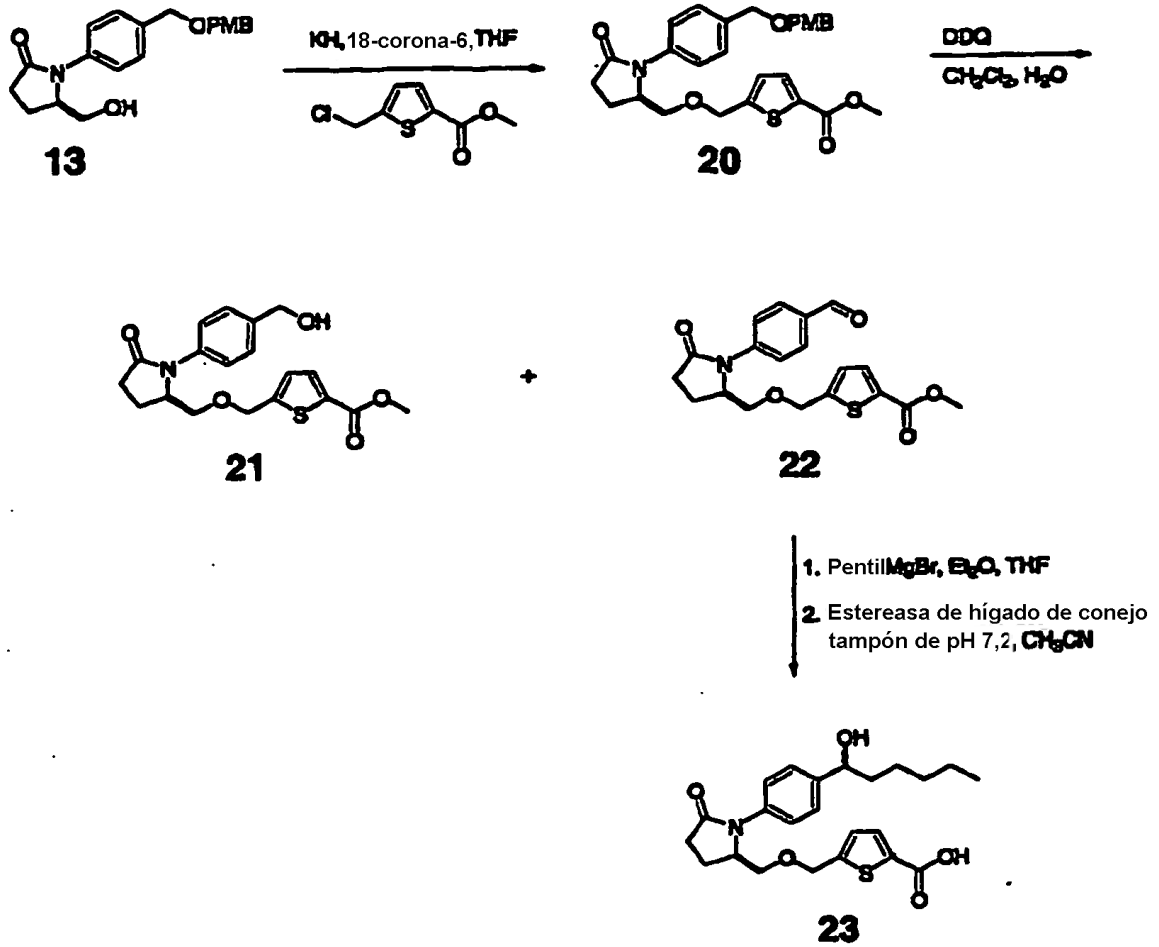


Fig. 5

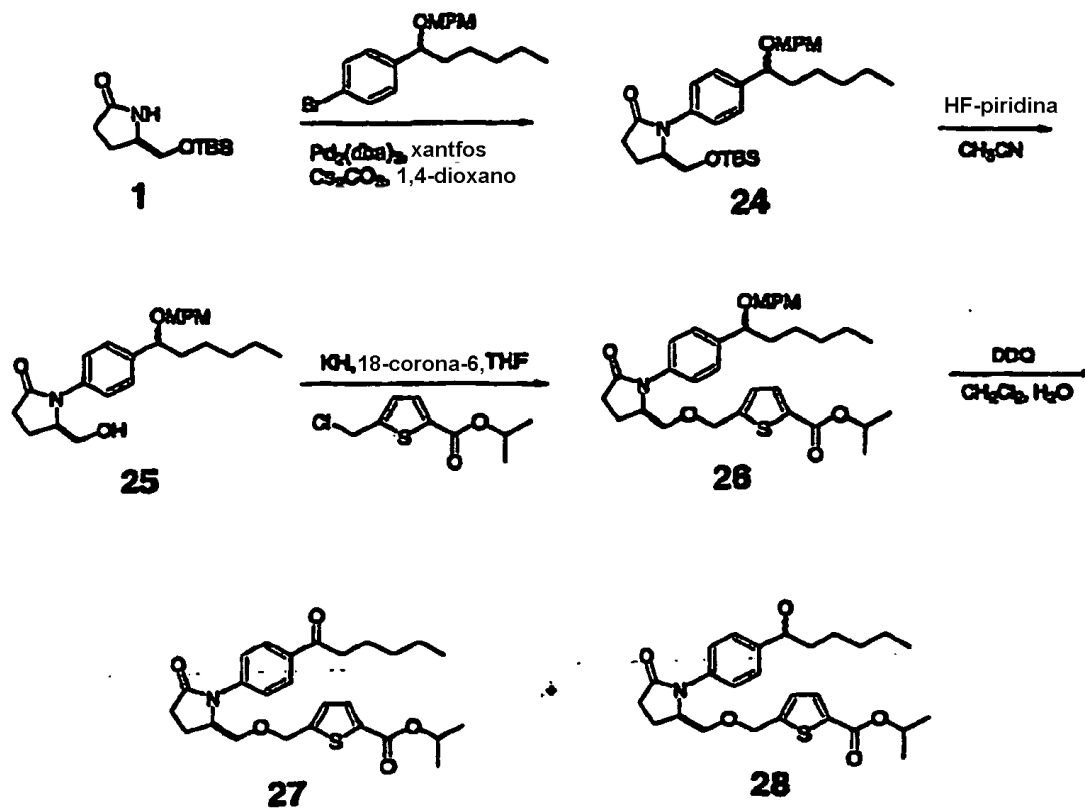


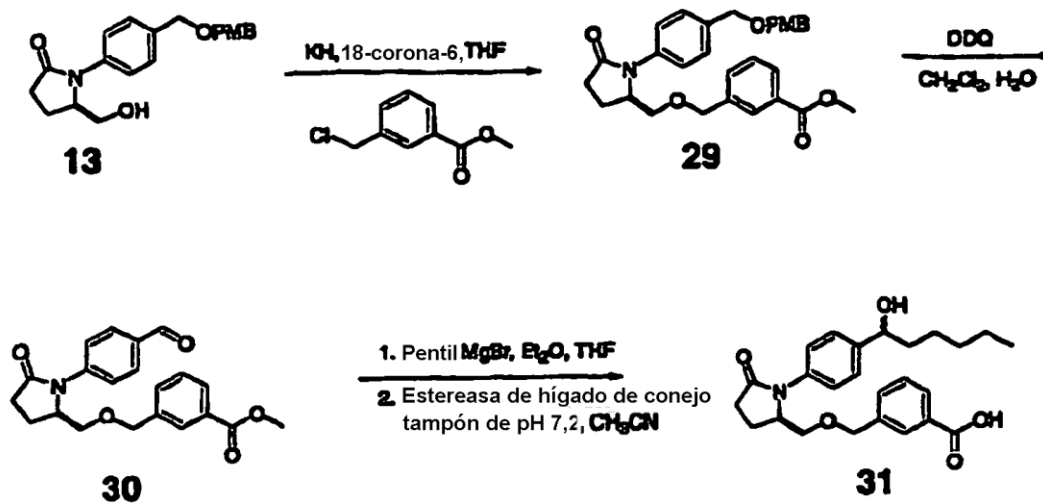
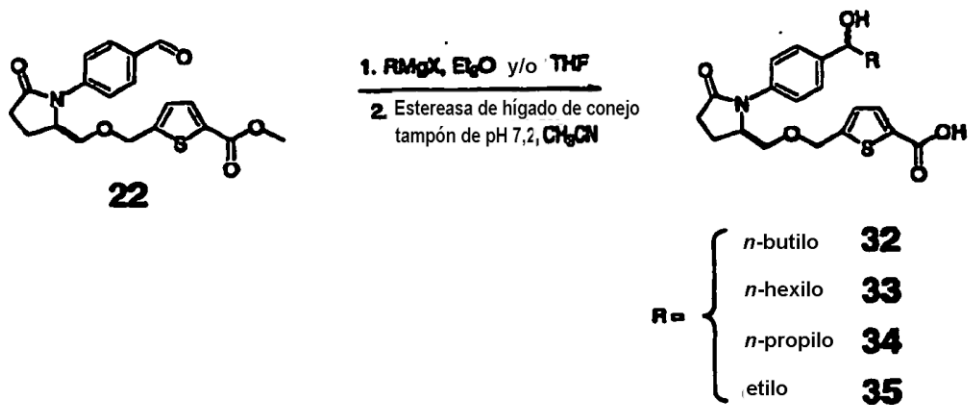
Fig. 6**Fig. 7**

Fig. 8

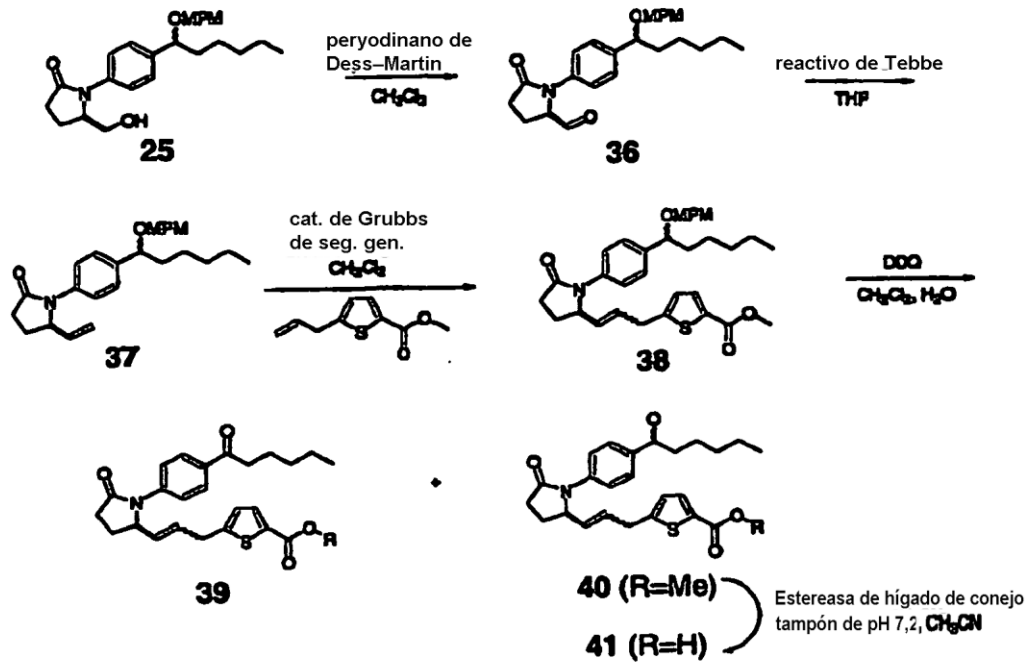


Fig. 9

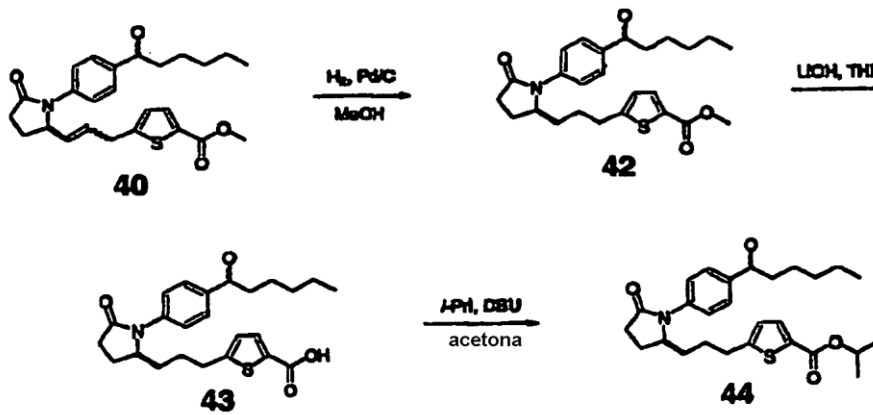


Fig. 10

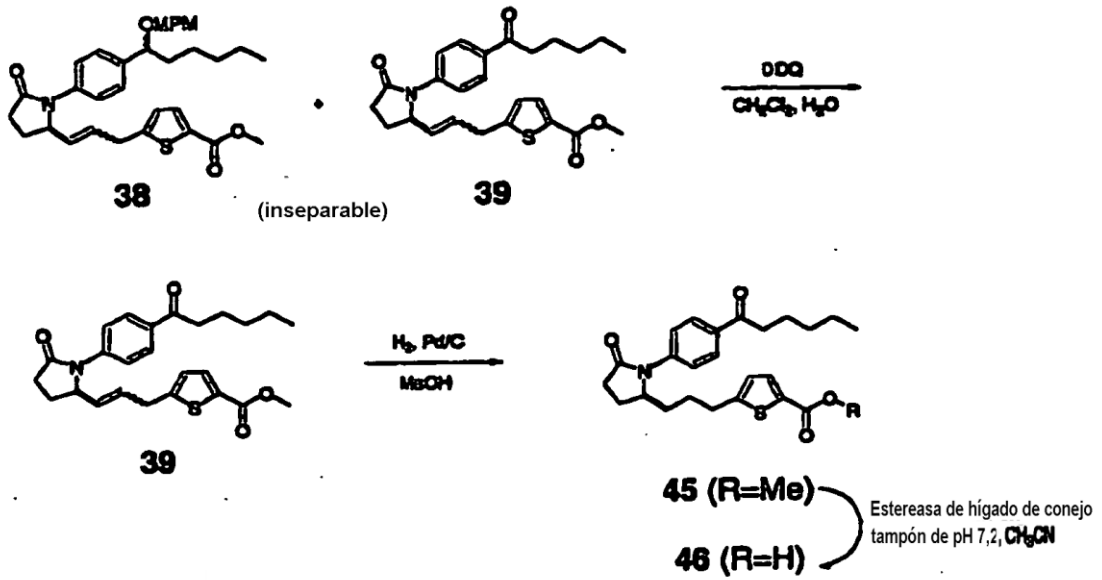


Fig. 11

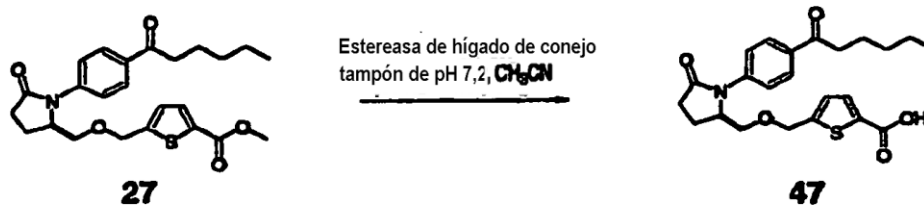


Fig. 12

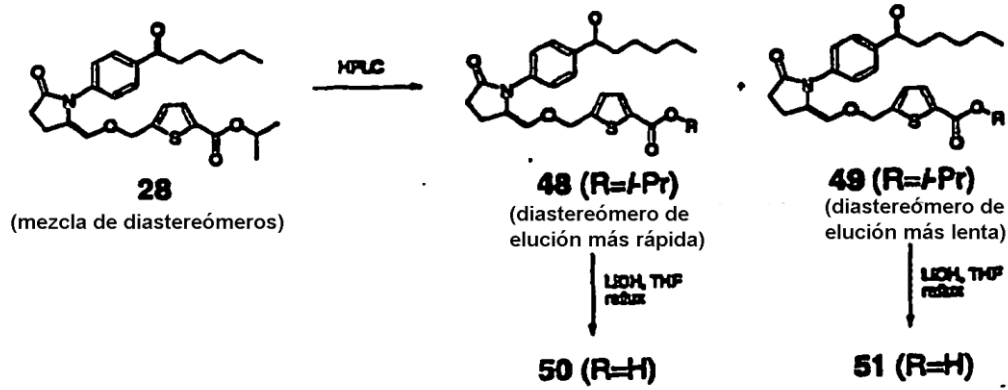


Fig. 13

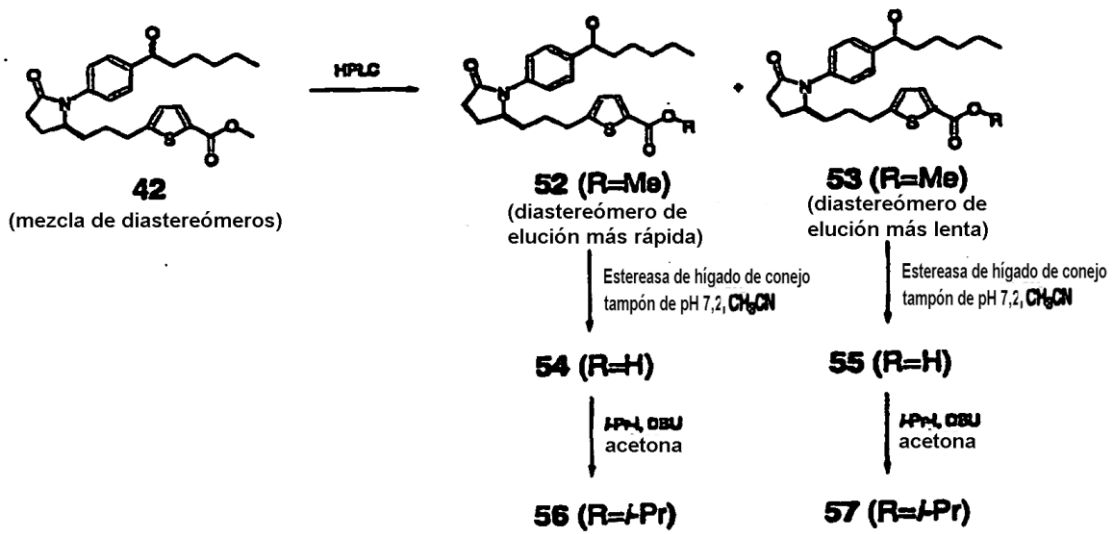


Fig. 14

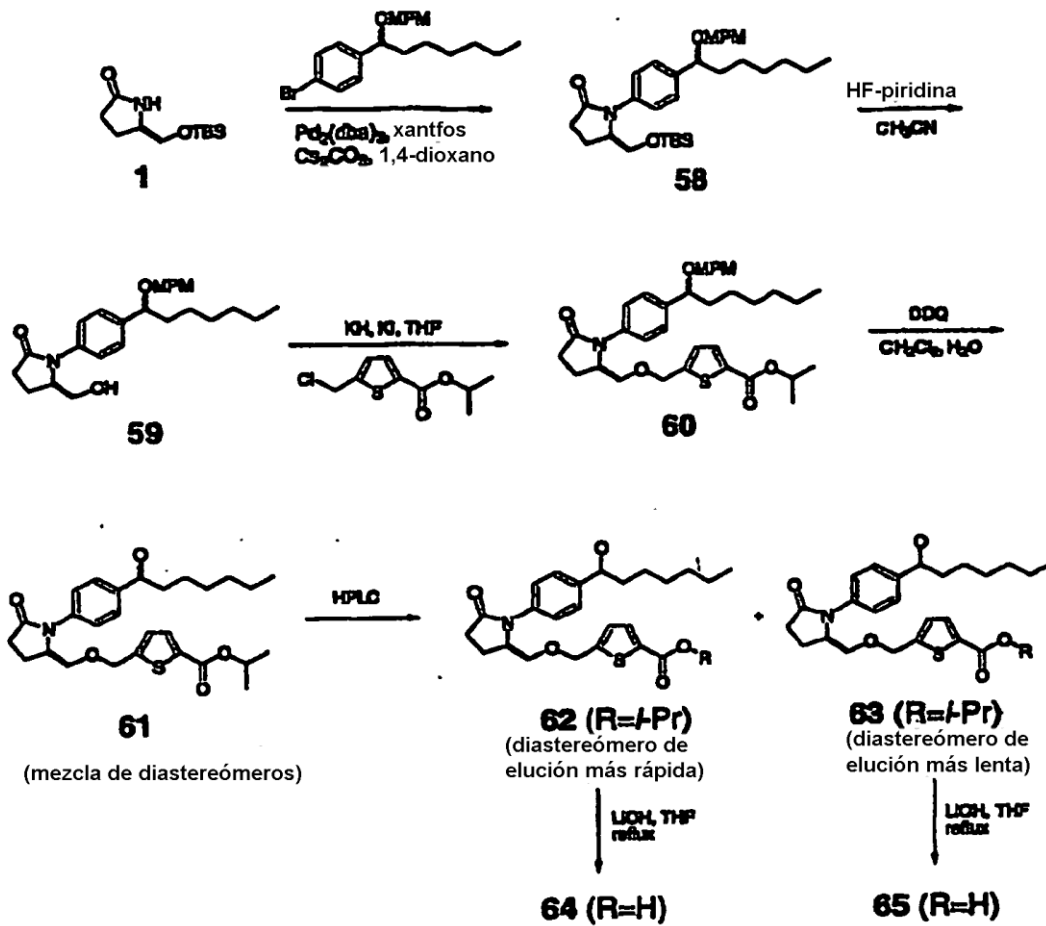


Fig. 15

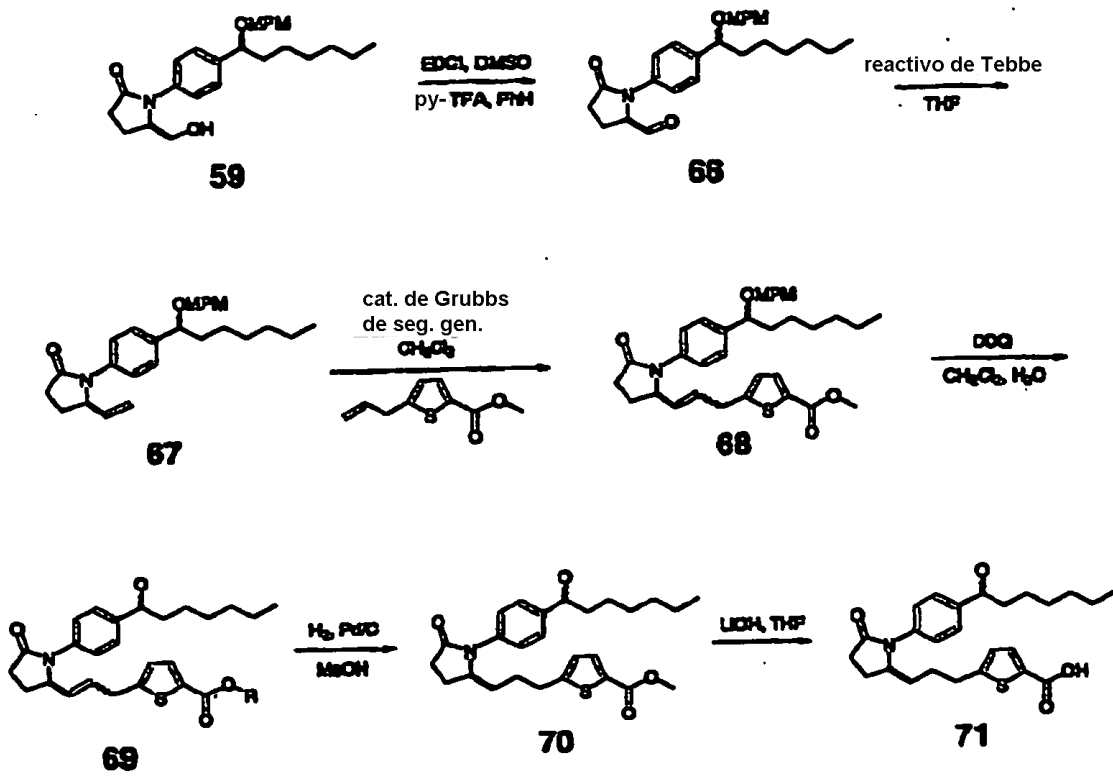


Fig. 16

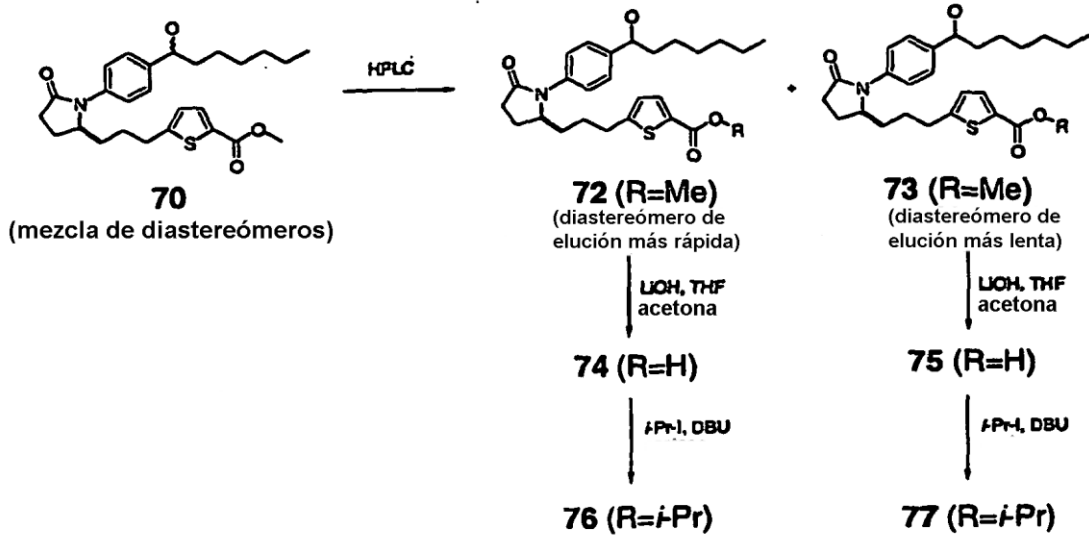


Fig. 17

