

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 390 560**

51 Int. Cl.:
C07D 403/12 (2006.01)
A61K 31/506 (2006.01)
A61P 25/18 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **09734415 .4**
96 Fecha de presentación: **02.04.2009**
97 Número de publicación de la solicitud: **2280961**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **09.02.2011**

54 Título: **Compuestos de 1,5-difenil-pirrolidin-2-ona como ligandos CB-1**

30 Prioridad:
22.04.2008 US 46943 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
14.11.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
14.11.2012

73 Titular/es:
ELI LILLY AND COMPANY (100.0%)
Lilly Corporate Center
Indianapolis, IN 46285, US

72 Inventor/es:
SCHAUS, JOHN, MEHNERT

74 Agente/Representante:
CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 390 560 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

Compuestos de 1,5-difenil-pirrolidin-2-ona como ligandos CB-1

El receptor canabinoide CB-1 (CB-1) se encuentra, principalmente, en los sistemas nerviosos central y periférico y, en menor grado, en diversos órganos periféricos. El receptor canabinoide CB-2 (CB-2) se encuentra, principalmente, en el sistema inmunológico. El potencial farmacológico y terapéutico de los ligandos del receptor canabinoide han sido evaluados (Pacher, et al. Pharmacol. Rev. (2006) 58, 389)). Se ha demostrado que los agonistas inversos/antagonistas del receptor CB-1 son efectivos para reducir la alimentación y el peso corporal en modelos animales de obesidad. Se ha demostrado que los agonistas inversos/antagonistas de CB-1 potencian adicionalmente la actividad de los agentes antipsicóticos en diversos ensayos y pueden ser efectivos en el tratamiento de síntomas tanto negativos como cognitivos de la esquizofrenia. Además, los efectos de pérdida de peso de los agonistas inversos/antagonistas de CB-1 se han demostrado en modelos animales de ganancia de peso inducida por tratamiento antipsicótico y, por lo tanto, también pueden ser efectivos para controlar el aumento de peso emergente del tratamiento y el síndrome metabólico observado con las terapias antipsicóticas actuales. Además, los agonistas inversos/antagonistas del receptor CB-1 han demostrado que reducen el consumo de alcohol en modelos animales de consumo de alcohol y, por lo tanto, pueden ser útiles en el tratamiento del alcoholismo y/o del abuso de sustancias.

Los compuestos que actúan en el receptor CB-2 pueden tener efectos sobre la función inmunológica. Por lo tanto, en el desarrollo de agentes terapéuticos activos en el receptor CB-1, es deseable tener una alta selectividad para el receptor CB-1 en comparación con la del receptor CB-2 para evitar efectos indeseables.

Se han estudiado una serie de agonistas inversos/antagonistas del receptor CB-1 para el tratamiento de la obesidad y/u otros trastornos. Por ejemplo, el documento WO2007/020502 describe ciertos compuestos de pirrolidin-2-ona sustituidos como antagonistas de CB-1.

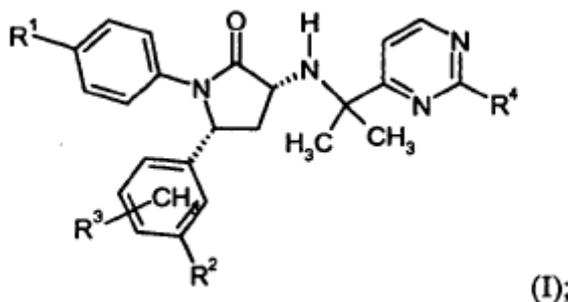
La administración oral es, típicamente, la ruta de administración preferente para agentes para el tratamiento de la obesidad y/o la esquizofrenia. Para que los compuestos muestren una buena biodisponibilidad oral, típicamente, deben tener una buena solubilidad acuosa y una estabilidad metabólica suficiente para minimizar el primer paso de la degradación en el hígado. Los ligandos canabinoides endógenos y el sitio complementario al cual se unen en el receptor CB-1 son altamente lipófilos. Consiguientemente, los ligandos del receptor CB-1 conocidos también han tendido a ser lipófilos, lo que conduce a una mala solubilidad. Además, muchos ligandos del receptor CB-1 han sido relativamente lábiles, metabólicamente. Estas propiedades de solubilidad y/o metabolismo de muchos compuestos CB-1 han resultado en una absorción y una biodisponibilidad oral limitadas.

El metabolismo oxidativo de algunos compuestos puede conducir a la formación de intermediarios metabólicos reactivos, electrófilos. Dichos intermediarios son propensos a la reacción con otros nucleófilos en el cuerpo, tales como proteínas, glutatión, ADN, ARN, etc., que pueden conducir a efectos tóxicos indeseables.

Las propiedades farmacocinéticas de un agente terapéutico pueden ser influenciadas por la co-administración de otros agentes. Estas interacciones, denominadas fármaco-fármaco, pueden conducir a un aumento o a una disminución en la exposición al plasma del agente terapéutico, conduciendo a problemas con la tolerabilidad y/o la eficacia del agente. Los compuestos que son eliminados metabólicamente a través de mecanismos saturables (por ejemplo CYP3A4, CYP2D6, CYP2C9 y CYP1A2) son particularmente propensos a sufrir de dichas interacciones fármaco-fármaco. Por el contrario, los compuestos que inhiben estos mecanismos saturables son propensos a causar dichas interacciones fármaco-fármaco. Algunos agonistas inversos/antagonistas de CB-1 conocidos exhiben dichas propensiones.

Sigue habiendo una necesidad de agonistas inversos o antagonistas del receptor CB-1 que tengan una alta selectividad por el receptor CB-2, tengan alta potencia *in vivo* (K_b de bajo nM), tengan una biodisponibilidad aceptable, que no formen intermediarios metabólicos reactivos, y que tengan un menor potencial para interacciones fármaco-fármaco. Los compuestos de la presente invención proporcionan algunas o la totalidad de estas ventajas.

La presente invención proporciona compuestos de Fórmula (I)



en la que:

R¹ es seleccionado de entre el grupo consistente en hidrógeno, cloro, ciano, trifluorometilo difluorometoxi y trifluorometoxi;

5 R² es seleccionado de entre el grupo consistente en hidrógeno, halo, ciano, alquilo (C₁-C₃) sustituido con de 1 a 5 grupos flúor, y alcoxi (C₁-C₃) sustituido con de 1 a 5 grupos flúor;

R³ es seleccionado de entre el grupo consistente en hidrógeno, flúor y cloro;

R⁴ es seleccionado de entre el grupo consistente en trifluorometilo, ciano y ciclopropilo;

con la condición de que, cuando R¹ es hidrógeno, cloro, ciano o trifluorometilo, entonces R² es alcoxi (C₁-C₃) sustituido con de 1 a 5 grupos flúor;

10 y sus sales farmacéuticamente aceptables.

15 Una persona con conocimientos ordinarios en la materia reconocerá que los compuestos de la presente invención pueden existir en formas que tienen diferentes puntos de fijación de átomos de hidrógeno particulares y son, de esta manera, tautómeros. Los tautómeros individuales, así como sus mezclas, están contemplados dentro del alcance de los compuestos de la Fórmula (I), como si estuvieran dibujados específicamente. Cada una de las formas del tautómero pueden existir, interconvertirse y sufrir la tautomerización bajo las condiciones especificadas.

Otro aspecto de la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto según la Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

20 Una realización de este aspecto de la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto según la Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable, en el que la pureza óptica del único estereoisómero del compuesto de Fórmula (I), o sal del mismo, es mayor del 90%, preferentemente mayor del 95%, tal como por ejemplo, mayor del 99%.

Otro aspecto de la presente invención proporciona un compuesto según la Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en una terapia.

25 Una realización de este aspecto de la presente invención proporciona un compuesto según la Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de un trastorno alimentario asociado con una ingesta excesiva de alimentos, aumento de peso, obesidad, esquizofrenia, deterioro cognitivo asociado con la esquizofrenia, síntomas negativos asociados con esquizofrenia, abuso de sustancias, dependencia del alcohol y/o aumento de peso asociado con un tratamiento con un antipsicótico, o como ayuda para dejar de fumar.

30 Otra realización de este aspecto de la invención proporciona un compuesto según la Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en un tratamiento de combinación simultánea, separada o secuencial con un agente antipsicótico en un tratamiento para el aumento de peso, la obesidad, la esquizofrenia, el deterioro cognitivo asociado con la esquizofrenia, los síntomas negativos asociados con esquizofrenia y/o el aumento de peso asociado con un tratamiento con un antipsicótico.

35 En otro aspecto de la presente invención, se proporciona el uso de un compuesto según la Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de un trastorno alimentario asociado con la ingesta excesiva de alimentos, el aumento de peso, la obesidad, la esquizofrenia, el deterioro cognitivo asociado con la esquizofrenia, los síntomas negativos asociados con esquizofrenia, el abuso de sustancias, la dependencia del alcohol y/o el aumento de peso asociado con un tratamiento con un antipsicótico o como una ayuda para dejar de fumar.

40 Una realización de este aspecto de la invención proporciona el uso de un compuesto según la Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la fabricación de un medicamento para uso en una terapia de combinación para el aumento de peso, la obesidad, la esquizofrenia, el deterioro cognitivo asociado con la esquizofrenia, los síntomas negativos asociados con la esquizofrenia y/o el aumento de peso asociado con un tratamiento con un antipsicótico, en el que dicho medicamento será administrado en combinación simultánea, separada o secuencial con un antipsicótico.

45 En otro aspecto de este aspecto de la invención, se divulga un procedimiento para el tratamiento de un trastorno alimentario asociado con la ingesta excesiva de alimentos, el aumento de peso, la obesidad, la esquizofrenia, el deterioro cognitivo asociado con la esquizofrenia, los síntomas negativos asociados con la esquizofrenia, el abuso de sustancias, la dependencia del alcohol y/o el aumento de peso asociado con un tratamiento con un antipsicótico o para

una ayuda para dejar de fumar en un mamífero, en particular, un ser humano, que comprende administrar a un mamífero en necesidad de dicho tratamiento, una cantidad efectiva de un compuesto según la Fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

5 Otra realización de este aspecto de la invención divulga un procedimiento para el tratamiento del aumento de peso, la obesidad, la esquizofrenia, el deterioro cognitivo asociado con la esquizofrenia, los síntomas negativos asociados con la esquizofrenia y/o el aumento de peso asociado con un tratamiento con un antipsicótico en un ser humano, que comprende la administración a un ser humano en necesidad de dicho tratamiento, una cantidad efectiva de un compuesto según la Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación simultánea, separada o secuencial con un antipsicótico.

10 Además, la presente invención proporciona una formulación farmacéutica adaptada para el tratamiento de un trastorno alimentario asociado con una ingesta excesiva de alimentos, el aumento de peso, la obesidad, la esquizofrenia, el deterioro cognitivo asociado con la esquizofrenia, los síntomas negativos asociados con la esquizofrenia, el abuso de sustancias, la dependencia del alcohol y/o aumento de peso asociado con un tratamiento con un antipsicótico, o para una ayuda para dejar de fumar, que comprende un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en asociación con, un portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

15 En el uso de los compuestos de la presente invención en el tratamiento de combinación simultánea, separada o secuencial con un antipsicótico, es preferente un antipsicótico atípico, tal como, por ejemplo, olanzapina, clozapina y/o risperidona.

20 Los compuestos de Fórmula (I) son agonistas inversos o antagonistas selectivos para el receptor CB-1. Los compuestos son particularmente selectivos para el receptor CB-1 sobre el receptor CB-2. Como agonistas inversos (o antagonistas) del receptor CB-1, los compuestos son útiles para el tratamiento y/o la prevención de afecciones asociadas con el receptor CB-1. Dichas afecciones incluyen, por ejemplo, trastornos alimentarios asociados a la ingesta excesiva de alimentos, obesidad, esquizofrenia, particularmente, los síntomas negativos asociados con la esquizofrenia, tales como, por ejemplo, deterioro cognitivo asociado con la esquizofrenia, abuso de sustancias, dependencia del alcohol, dejar de fumar y aumento de peso asociado con un tratamiento con un antipsicótico. Véase DSM-IV-TR., Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders. Revisada, 4ª Ed., Revisión de Texto (2000). La persona con conocimientos en la materia reconocerá que hay nomenclaturas, nosologías y sistemas de clasificación alternativos para las afecciones psicológicas patológicas y que estos sistemas evolucionan con el progreso científico médico.

30 Los compuestos de Fórmula (I) pueden ser usados también para mejorar el aumento de peso, independientemente de si el sujeto asociado con el aumento de peso pueda ser clasificado como clínicamente obeso.

Otro aspecto de la presente invención proporciona un procedimiento cosmético de inducción de pérdida de peso que comprende administrar a un ser humano un compuesto de Fórmula (I).

35 Una cantidad efectiva de los compuestos de Fórmula (I) puede ser administrada a un paciente en necesidad de dicho tratamiento o profilaxis, con el fin de practicar los presentes procedimientos de terapia. La necesidad de una administración profiláctica según los procedimientos de la presente invención se determina mediante el uso de factores de riesgo bien conocidos. La cantidad efectiva de un compuesto individual es determinada, en el análisis final, por el médico encargado del tratamiento, pero depende de factores tales como el trastorno a tratar, la gravedad del trastorno y otras enfermedades o afecciones presentes, la ruta de administración elegida, otros medicamentos y tratamientos que el paciente puede requerir de manera concomitante, y otros factores considerados por el médico. La magnitud de la dosis terapéutica o profiláctica de un compuesto de Fórmula (I), por supuesto, variará con el tamaño y la edad del paciente, la naturaleza y la gravedad de la afección a tratar, el compuesto particular usado y la ruta de administración deseada.

40 La dosis puede ser administrada en una dosis diaria única o la dosis diaria total puede ser administrada en múltiples dosis divididas, tal como, por ejemplo, dos, tres o cuatro veces al día. Además, en base a las propiedades del compuesto individual seleccionado para la administración y/o las características de la forma de dosificación (es decir, la liberación modificada), la dosis puede ser administrada menos frecuentemente, por ejemplo, semanalmente, dos veces por semana, mensualmente, etc. La unidad de dosificación puede ser correspondientemente más grande para una administración menos frecuente. Cuando es administrada a través de rutas transdérmicas o a través de una solución intravenosa continua, la administración de la dosis será, por supuesto, continua en lugar de intermitente a lo largo del régimen de dosificación.

45 Tal como se ha usado anteriormente y a lo largo de la descripción de la invención, los términos siguientes, a menos que se indique lo contrario, tendrán el significado siguiente:

Tal como se utiliza en la presente memoria, el término " alquilo (C₁-C₃) " se refiere a metilo, etilo, propilo e

isopropilo.

"Halo" se refiere a flúor, cloro o bromo.

"Alcoxi (C₁-C₃)" se refiere a metoxi, etoxi, propoxi e isopropoxi.

5 "Agonista inverso o agonistas inversos" se refiere a aquellos compuestos que poseen actividad intrínseca negativa mediante la inversión de la actividad constitutiva del receptor. Los agonistas inversos actúan para inhibir o revertir la actividad de los agonistas.

10 "Obesidad" se refiere a la afección de tener una alta cantidad de grasa corporal. Una persona es considerada obesa si él o ella tiene un índice de masa corporal (IMC) de 30 kg/m² o superior. Generalmente, se considera que una persona con IMC = 27-30 tiene sobrepeso. Convencionalmente, las personas con peso normal tienen un IMC de 19,9 a 26,9. La obesidad puede ser debida a cualquier causa, genética o ambiental. Los ejemplos de trastornos que pueden resultar en obesidad o que pueden ser causa de obesidad incluyen comer en exceso, actividad física reducida y afecciones patológicas que muestran una actividad metabólica reducida. La invención no se ve afectada por la definición exacta de obesidad por la norma IMC y la totalidad de dichas definiciones deben ser consideradas como equivalentes.

15 El término "farmacéutica" o la expresión "farmacéuticamente aceptable", cuando se usan en la presente memoria como un adjetivo, significan sustancialmente no tóxicos y sustancialmente no perjudiciales para el receptor.

20 La expresión "composición farmacéutica" significa además que el portador, solvente, excipientes y/o sal debe ser compatible con el ingrediente activo de la composición (por ejemplo, un compuesto de Fórmula (I)). Las personas con conocimientos ordinarios en la materia entienden que las expresiones "formulación farmacéutica" y "composición farmacéutica" son generalmente intercambiables, y se usan de esta manera para los propósitos de esta solicitud. También se entenderá que una composición farmacéutica según la presente invención tendrá uno o más compuestos de Fórmula (I) y puede contener también uno o más ingredientes activos diferentes, según se desee, para una composición farmacéutica determinada.

25 El término "prevención" (de obesidad o de aumento de peso) se refiere a la prevención de la obesidad si el tratamiento es administrado previamente a la aparición de la afección de obesidad. Además, si el tratamiento se inicia en un sujeto ya obeso, se espera que dicho tratamiento prevenga, o prevenga la progresión de un aumento de peso adicional. Un ejemplo de dicha prevención es prevenir un aumento de peso adicional en un ser humano que sigue un tratamiento con un antipsicótico.

Las abreviaturas usadas en la presente memoria se definen como se indica a continuación:

"THF" significa tetrahidrofurano.

30 "MTBE" significa metil terc-butil éter.

"HOAc" significa ácido acético.

"Et₂O" significa éter dietílico.

"BSA" significa albúmina de suero bovino.

"GDP" se refiere a difosfato de guanosina.

35 "GTP" significa guanosina-5'-trifosfato.

"GTP γ³⁵S" significa guanosina-5 '(γ-tio)-trifosfato.

"HEPES" significa (ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazinaetanosulfónico).

"HOAc" significa ácido acético.

"i.v." o "iv" significa vía intravenosa.

40 "p.o." o "po" significa vía oral.

"THF" significa tetrahidrofurano.

"T_r" significa tiempo de retención.

Aunque todos los compuestos de la presente invención son útiles como agonistas inversos (o antagonistas) de CB-1, ciertas clases son preferentes, tales como por ejemplo, los compuestos que tienen cualquiera de las siguientes

selecciones enumeradas de sustituyentes:

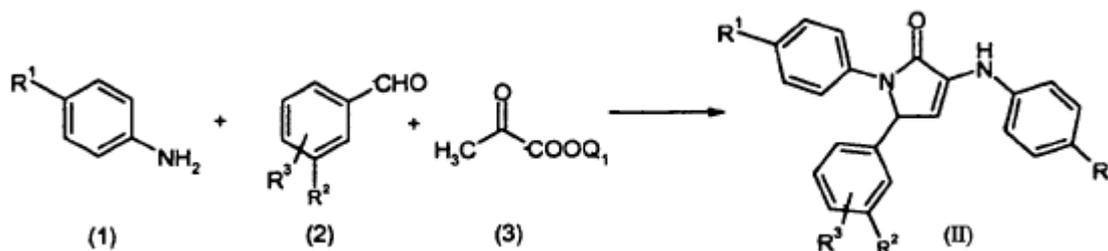
- 1) R¹ es -OCF₃, -OCHF₂, -CF₃ o -CN.
- 2) R¹ es -OCF₃, -OCHF₂ o -CF₃.
- 3) R¹ es -OCF₃ o -OCHF₂.
- 5 4) R¹ es -OCF₃ o -CF₃.
- 5) R² es hidrógeno, flúor, cloro ciano, trifluorometilo, 1,1-difluoroetilo, trifluorometoxi, difluorometoxi o 1,1,2,2-tetrafluoroetoxi.
- 6) R² es trifluorometilo, 1,1-difluoroetilo, difluorometoxi, trifluorometoxi o 1,1,2,2-tetrafluoroetoxi.
- 7) R² es trifluorometilo, 1,1-difluoroetilo, difluorometoxi, trifluorometoxi o 1,1,2,2-tetrafluoroetoxi, y R³ es hidrógeno.
- 10 8) R² es -OCF₃ o -CF₃.
- 9) R² es -CF₃ o -CF₃ y R³ es el hidrógeno.
- 10) R² es -CF₃, -OCHF₂ o 1,1,2,2-tetrafluoroetoxi.
- 11) R² es -OCF₃, -OCHF₂ o 1,1,2,2-tetrafluoroetoxi, y R³ es hidrógeno.
- 12) R³ es hidrógeno.
- 15 13) R⁴ es -CF₃.
- 14) R¹ es -OCF₃, -OCHF₂ y R² es hidrógeno, flúor, cloro, ciano, trifluorometilo, 1,1-difluoroetilo, trifluorometoxi, difluorometoxi o 1,1,2,2-tetrafluoroetoxi.
- 15) R¹ es -OCF₃, -OCHF₂ y R² es trifluorometilo, 1,1-difluoroetilo, trifluorometoxi, difluorometoxi o 1,1,2,2-tetrafluoroetoxi, y R³ es hidrógeno.
- 20 16) R¹ es -OCF₃, -CF₃ o -CN, R² es hidrógeno, -OCF₃ o -CF₃, R³ es hidrógeno y R⁴ es -CF₃.
- 17) R¹ es -OCF₃ o -CF₃, R² es hidrógeno, -OCF₃ o -CF₃, R³ es hidrógeno y R⁴ es -CF₃.
- 18) R¹ es -OCF₃, -CF₃ o -CN, R² es -OCF₃ o -CF₃, R³ es hidrógeno y R⁴ es -CF₃.
- 19) R¹ es -OCF₃ o -CF₃, R² es -OCF₃ o -CF₃, R³ es hidrógeno y R⁴ es -CF₃.

25 Los compuestos específicos preferentes de la presente invención son los descritos en los Ejemplos en la presente memoria, incluyendo las bases libres y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

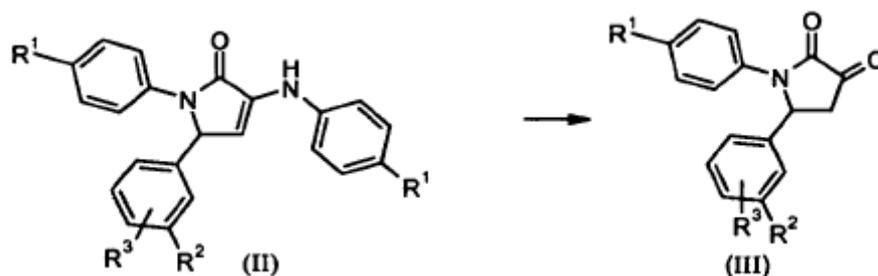
Esquemas generales

30 Los compuestos de la presente invención pueden ser preparados según los esquemas sintéticos siguientes mediante procedimientos bien conocidos y apreciados en la técnica. Las condiciones de reacción adecuadas para las etapas de estos esquemas son bien conocidas en la técnica y las sustituciones apropiadas de solventes y co-reactivos están dentro de la experiencia de la técnica. Asimismo, las personas con conocimientos en la materia apreciarán que los intermedios sintéticos pueden ser aislados y/o purificados mediante diversas técnicas bien conocidas, según sea necesario o se desee, y que frecuentemente, será posible usar directamente diversos intermedios en etapas sintéticas subsiguientes con poca o ninguna purificación. Además, la persona con conocimientos en la materia apreciará que, en algunas circunstancias, el orden en que se introducen las fracciones no es crítico. El orden particular de las etapas necesarias para producir los compuestos de Fórmula I depende del compuesto particular que está siendo sintetizado, el compuesto de partida y la labilidad relativa de las fracciones sustituidas, tal como es bien apreciado por el químico experimentado. Todos los sustituyentes, a menos que se indique lo contrario, son tal como se han definido anteriormente, y todos los reactivos son bien conocidos y apreciados en la técnica.

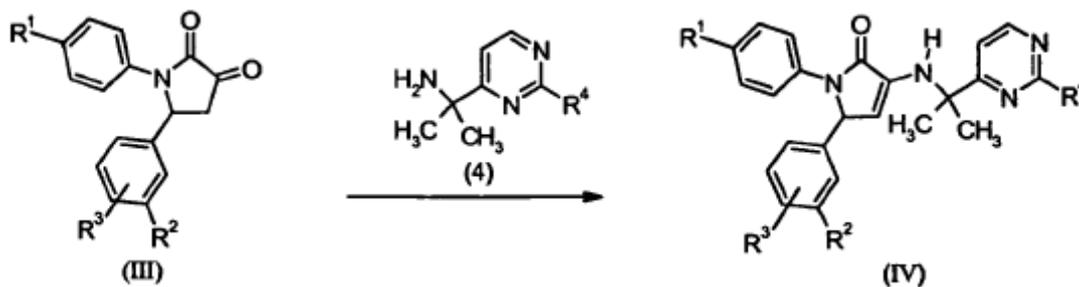
40

Esquema I

10 En el Esquema I, un compuesto de Fórmula (II) puede ser preparado mediante el procedimiento descrito por Andreichikov y colaboradores (Andreichikov, et al. Zhurnal Organicheskoi Khimii 22 (10), 2208-13 (1986)), en el que una mezcla de una amina de Fórmula (1) y un aldehído de Fórmula (2) es tratada con un éster de ácido pirúvico (3), donde Q₁ es un grupo alquilo C₁₋₃, en un solvente adecuado, tal como HOAc glacial. Los ésteres adecuados de ácido pirúvico incluyen piruvato de etilo. La reacción puede proceder a temperaturas entre la temperatura ambiente y el punto de ebullición del solvente. En algunos casos, el producto (II) puede precipitar durante el curso de la reacción o después de la adición de un solvente en el que el producto no es muy soluble. Estos solventes incluyen alcohol isopropílico y agua y sus mezclas. Si se forma un precipitado, el compuesto de Fórmula (II) puede ser aislado mediante filtración y secado al vacío o mediante filtración y cromatografía. Como alternativa, el compuesto puede ser aislado mediante concentración de la reacción y cromatografía del residuo o mediante tratamiento acuoso y concentración y cromatografía de los extractos orgánicos.

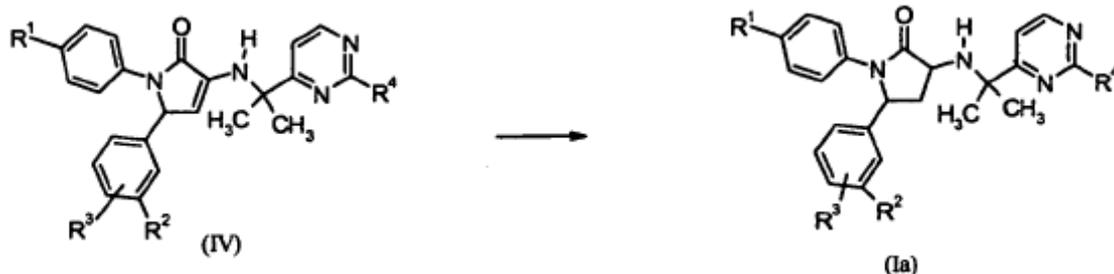
Esquema II

25 En el Esquema II, un compuesto de Fórmula (III) puede ser preparado mediante el tratamiento de un compuesto de Fórmula (II) con agua, opcionalmente en presencia de un ácido. Esta reacción puede llevarse a cabo también, opcionalmente, en presencia de solventes adicionales, tales como tetrahidrofurano, ácido acético y etanol o sus mezclas. Un ácido adecuado incluye ácido trifluoroacético y ácido clorhídrico. Frecuentemente, es ventajoso llevar a cabo esta reacción en presencia de al menos un equivalente de 2,5-dimetoxitetrahidrofurano. Una vez formado el compuesto de Fórmula (III), el mismo puede ser aislado añadiendo agua y enfriando para formar un precipitado y un aislamiento subsiguiente del precipitado mediante filtración o añadiendo una mezcla de solventes, tales como tolueno y acetato de isopropilo y lavando con agua y solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio. La capa orgánica puede ser secada sobre un desecante, tal como sulfato de sodio, y puede ser concentrada para proporcionar el producto como una mezcla en bruto. La capa orgánica puede ser usada también directamente en la reacción siguiente, sin purificación o concentración adicional.

Esquema III

En el Esquema III, un compuesto de Fórmula (IV) puede ser preparado mediante el tratamiento de una solución de un compuesto de Fórmula (III) con un compuesto de Fórmula (4) en un solvente adecuado, tal como tolueno, metanol, acetato de isopropilo o una mezcla de los solventes. Esta reacción puede ser realizada también en presencia de un catalizador, tal como HOAc. El compuesto de Fórmula (IV) puede ser aislado, si se desea, mediante procedimientos conocidos en la técnica, tales como mediante precipitación o mediante cromatografía en gel de sílice.

Esquema IV

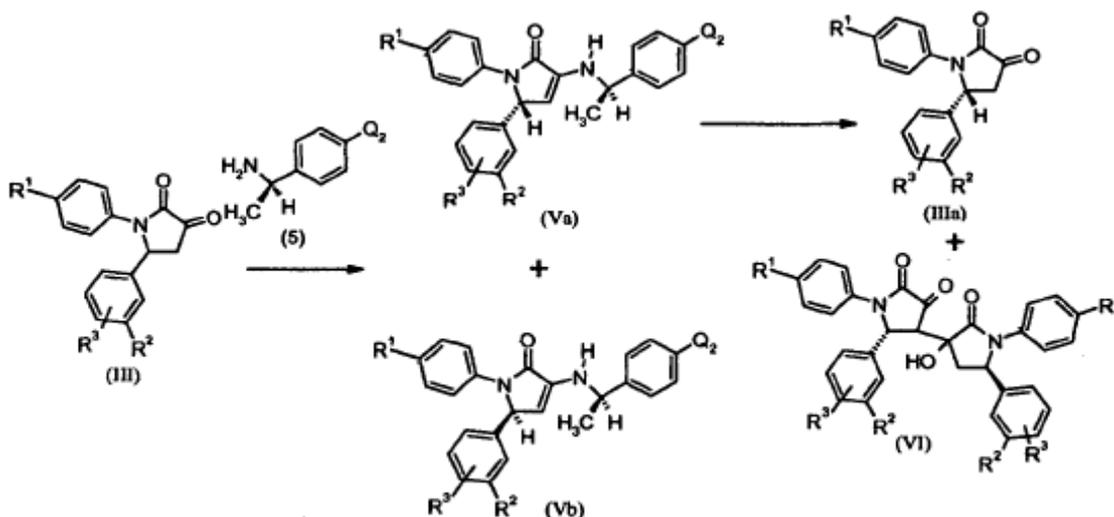


En el Esquema IV, un compuesto de Fórmula (Ia) puede ser formado mediante el tratamiento de un compuesto de Fórmula (IV) bajo condiciones reductoras adecuadas. Las condiciones reductoras adecuadas incluyen el tratamiento con NaCNBH₃ en presencia de HOAc en un solvente, tal como tetrahidrofurano. El compuesto de Fórmula (Ia) puede ser aislado mediante medios tales como tratamiento acuoso o precipitación del producto. Puede realizarse una purificación adicional mediante el uso de técnicas tales como cromatografía en gel de sílice.

En la síntesis de un compuesto de Fórmula (Ia), cualquiera de los intermedios de la Fórmula (III) o la Fórmula (IV) puede ser usado directamente en las reacciones subsiguientes, sin purificación de los compuestos intermedios crudos.

Los enantiómeros individuales de los compuestos de Fórmula (Ia) son preferentes, en general, sobre los racematos correspondientes. Estos enantiómeros pueden ser preparados mediante la resolución de un compuesto de Fórmula (Ia), usando técnicas tales como cromatografía preparativa, empleando una fase quiral estacionaria. Los enantiómeros pueden ser preparados también mediante la resolución que comprende la formación de una sal de la mezcla racémica con un ácido ópticamente activo y la purificación de la sal diastereómera deseada. La sal diastereómera deseada puede ser purificada mediante cristalización. Como alternativa, cualquiera de los compuestos intermedios de Fórmula (II), (III) o (IV) puede ser resuelto para proporcionar, sustancialmente, un único enantiómero que puede ser convertido, a continuación, usando los procedimientos descritos anteriormente para proporcionar un compuesto de Fórmula (Ia) en su forma enantioméricamente purificada, tal como los compuestos de Fórmula (I). Los compuestos intermedios de Fórmula (II), (III) o (IV) pueden ser preparados mediante la resolución de los compuestos del compuesto racémico correspondiente, usando técnicas tales como cromatografía preparativa, empleando una fase estacionaria quiral.

Esquema V

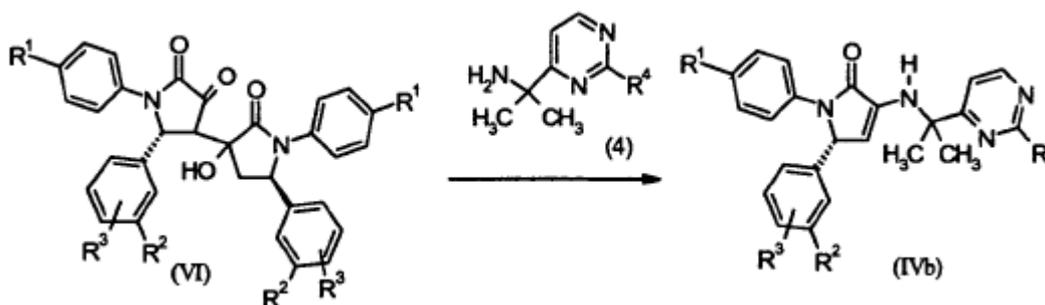


Un procedimiento alternativo, y frecuentemente preferente, para la preparación de enantiómeros purificados de los compuestos de Fórmula (III) se resume en el Esquema V. Un compuesto racémico de Fórmula (III) se hace reaccionar con un compuesto de Fórmula (5), en la que Q₂ es hidrógeno o halo, para formar una mezcla diastereomérica de los compuestos de Fórmula (Va) y (Vb). Los compuestos preferentes de Fórmula (5) incluyen R-alfa-metilbencilamina o S-alfa-metilbencilamina. Esta condensación puede llevarse a cabo tal como se ha descrito en el Esquema III anterior, combinando un compuesto de Fórmula (III) y el compuesto (5) con un solvente inerte. Esta reacción puede ser realizada también en presencia de un catalizador, tal como HOAc. A continuación, los diastereómeros de Fórmula (Va) y (Vb) son separados mediante técnicas tales como cromatografía en gel de sílice o cristalización a partir de solventes inertes, tales como isopropanol o metanol/KOH. A continuación, el diastereómero deseado (indicado como (Va)) en el Esquema V es hidrolizado para formar el enantiómero purificado de Fórmula (IIIa). Las condiciones de hidrólisis adecuadas incluyen tratar una solución del diastereómero deseado en HOAc con ácido clorhídrico acuoso o ácido trifluoroacético y agua y, opcionalmente, 2,5-dimetoxitetrahydrofurano. En algunos casos, el producto bruto (IIIa) puede contener cantidades sustanciales del dímero de Fórmula (VI).

En el Esquema V, el compuesto racémico de Fórmula (III) puede ser el producto bruto resultante del procedimiento descrito en el esquema II. Además, el enantiómero purificado (que opcionalmente contiene (VI)) de Fórmula (IIIa) puede ser usado directamente a partir de la reacción de hidrólisis, sin purificación adicional, en el procedimiento descrito en el Esquema III.

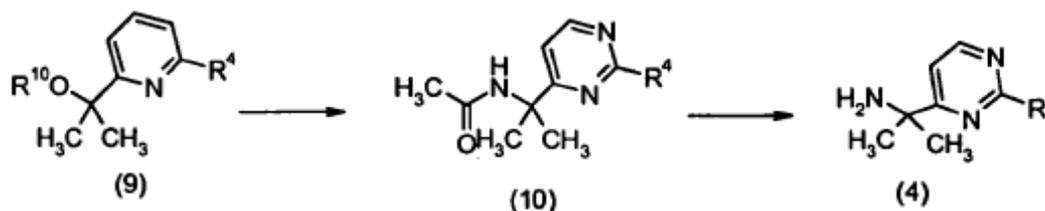
En el Esquema V, el (R)-enantiómero del compuesto (5) fue elegido para ejemplificar el procedimiento. Una persona con conocimientos en la materia reconocerá que el (S)-enantiómero del compuesto (5) puede ser usado también en este procedimiento. La elección de si usar el (R)-enantiómero o el (S)-enantiómero puede hacerse dependiendo de cual producirá el diastereómero deseado que se aísla más fácilmente.

Esquema VI



En el Esquema VI, el compuesto de Fórmula (IVb) puede ser formado también mediante el tratamiento del compuesto de Fórmula (VI) con el compuesto (4) bajo las mismas condiciones descritas para la reacción del compuesto (III) con (4) (Esquema III).

Esquema VII



En el Esquema VII, el compuesto (4) es preparado mediante el tratamiento de un compuesto (9), en la que R¹⁰ es hidrógeno, -CH₃, -CH₂CH₃ o -C(O)CH₃ con acetonitrilo, en presencia de ácido para proporcionar un compuesto de Fórmula (10). Los ácidos adecuados incluyen ácido sulfúrico o un ácido de Lewis adecuado, tal como eterato de trifluoruro de boro. Después de combinar los elementos anteriores, la reacción es calentada, es enfriada a temperatura ambiente, y es inactivada con hidróxido de sodio acuoso. El compuesto (10) es aislado mediante medios tradicionales tales como extracción con un solvente adecuado, tal como acetato de etilo, y concentración de la capa orgánica. El compuesto (10) es calentado en una solución de ácido clorhídrico acuoso a aproximadamente 100°C. El compuesto es extraído con éter dietílico. La capa acuosa se convierte en alcalina con hidróxido de sodio acuoso y es extraída con éter

dietílico. Las capas orgánicas son combinadas, son secadas sobre sulfato sódico, son filtradas y concentradas para proporcionar el compuesto (4).

Preparaciones y ejemplos

5 Condiciones para los procedimientos de cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) a las que se hace referencia en las preparaciones y ejemplos:

Procedimiento 1

Columna LC:	Phenomenex® Gemini® C ₁₈ 2,0 x 50 mm 3,0 µM
Gradiente:	5-100% acetonitrilo con 0,1% ácido fórmico en 7,0 min., a continuación, se mantuvo a 100% durante 1,0 min.
Temperatura de columna:	50°C +/- 10°C
Temperatura de muestreador automático:	ambiente
Tasa de flujo:	1,0 mL/min
Señal detectada a longitud de onda 214 y 300 nM	

Procedimiento 2

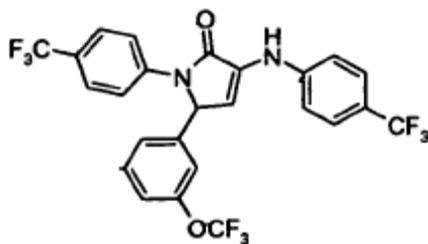
Columna LC:	Phenomenex® Gemini® C ₁₈ 2,0 x 50 mm 3,0 µM
Gradiente:	5-100% acetonitrilo con 0,1% ácido fórmico en 3,5 min., a continuación, se mantuvo a 100% durante 0,5 min.
Temperatura de columna:	50°C +/- 10°C
Temperatura de muestreador automático:	ambiente
Tasa de flujo:	1,0 mL/min
Señal detectada a longitud de onda 214 y 300 nM	

Procedimiento 3

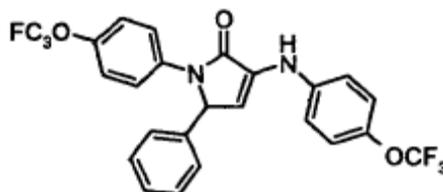
10	Columna LC: Zorbax® RX-C ₁₈ 4,6x 250 mm 5 µM
	Gradiente: 50-90% acetonitrilo con 0,03 M tampón fosfato (tampón fosfato = 5,52 g NaH ₂ PO ₄ y 1,4 mL de H ₃ PO ₄ en 2 L Milli-Q H ₂ O) en 15 minutos.
	Temperatura de columna: 40°C
	Temperatura de muestreador automático: ambiente
15	Tasa de flujo: 1,5 mL/min
	Señal detectada a longitud de onda 260 nM

Procedimiento 4

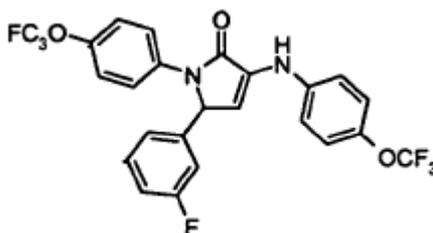
	Columna de LC: Zorbax® SB-fenil 4,6 x 150 mm 5 µm
20	Isocrática: 36% de A y 64% de B, donde A = 0,05 M NH ₄ OAc en agua (pH 5,0) y B = acetonitrilo durante 10 minutos.
	Temperatura de columna: 35°C
	Temperatura de muestreador automático: ambiente
	Tasa de flujo: 2,0 mL/min.
	Señal detectada a longitud de onda 206 nm.

Preparación 1: (±)-5-(3-trifluorometoxi-fenil)-1-(4-trifluorometil-fenil)-3-(4-trifluorometil-fenilamino)-1,5-dihidro-pirrol-2-ona

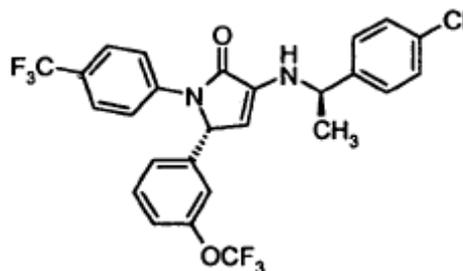
Agitar 3-(trifluorometoxi)-benzaldehído (25,0 g, 132 mmol) y piruvato de etilo (15,3 g, 132 mmol) en ácido acético glacial (125 mL) a temperatura ambiente, durante 10 minutos. Añadir, gota a gota, 4-(trifluorometil)anilina (46,7 g, 290 mmol) durante 15 minutos, con agitación continuada, calentar la solución a 30°C, y agitar durante aproximadamente 22 h. Enfriar la solución a 26°C, añadir isopropanol (125 mL) y agua (125 mL). Agitar la solución a temperatura ambiente durante 15 minutos, filtrar el precipitado y lavar con una mezcla 1:1 de alcohol isopropílico - agua (100 mL x 2). Secar bajo vacío a 40°C para obtener (±)-5-(3-trifluorometoxi-fenil)-1-(4-trifluorometil-fenil)-3-(4-trifluorometil-fenil)-1,5-dihidro-pirrol-2-ona (60,46 g, 84%) como un polvo blanco: LC-MS ESI m/z: 545,1 (M-H)⁻, R_t = 10,9 min., procedimiento 3. ¹H RMN (500 MHz, DMSO- d₆) δ 8,76 (s, 1 H), 7,86 (d, 2 H, J = 8,5 Hz), 7,70 (d, 2 H, J = 8,5 Hz), 7,56 (d, 2 H, J = 9,0 Hz), 7,47 (d, 2 H, J = 8,5 Hz), 7,44-7,41 (m, 1 H), 7,37 (s, 1 H), 7,29 (d, 1 H, J = 8,0 Hz), 7,22 (d, 1 H, J = 8,0 Hz), 6,66 (d, 1 H, J = 3,0 Hz), 6,29 (d, 1 H, J = 2,5 Hz).

Preparación 2: (±)-5-fenil-1-(4-trifluorometoxi-fenil)-3-(4-trifluorometoxifenilamino)-1,5-dihidro-pirrol-2-ona

Añadir 4-(trifluorometoxi)anilina (1,86 L, 13,75 mol), en porciones, a una solución de benzaldehído (559 mL, 5,50 mol) y piruvato de etilo (605 mL, 5,50 mol) en ácido acético glacial (5,0 L). Se observa exotermia a 43°C. Agitar a temperatura ambiente durante 18 horas. Filtrar el precipitado y lavar la torta húmeda con ácido acético glacial (500 mL). Secar bajo vacío durante 3 horas para obtener (±)-5-fenil-1-(4-trifluorometoxi-fenil)-3-(4-trifluorometoxi-fenilamino)-1,5-dihidro-pirrol-2-ona (1999 g, 74%) como un sólido cristalino blanco. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8,43 (s, 1H), 7,74 (d, J = 12 Hz, 2H), 7,19-7,38 (m, 11H), 6,42 (s, 1H), 6,08 (s, 1H). LC-MS ESI m/z: 495,0 (M+1)⁺, 493,0 (M-1)⁻, T_r = 6,60 min, procedimiento 1.

Preparación 3: (±)-5-(3-fluoro-fenil)-1-(4-trifluorometoxi-fenil)-3-(4-trifluorometoxi-fenilamino)-1,5-dihidro-pirrol-2-ona

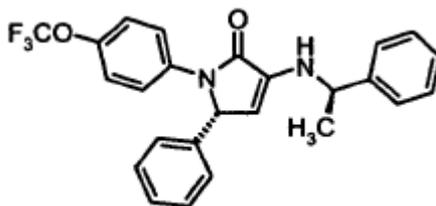
Mezclar 3-fluorobenzaldehído (10,0 mL, 94,3 mmol), 4-(trifluorometoxi)anilina (31,9 mL, 235,7 mmol) y piruvato de etilo (10,4 mL, 94,3 mmol) en ácido acético glacial (150 mL). Agitar a temperatura ambiente durante 18 horas. Filtrar el precipitado y lavar con hexanos para obtener (±)-5-(3-fluoro-fenil)-1-(4-trifluorometoxi-fenil)-3-(4-trifluorometoxi-fenilamino)-1,5-dihidro-pirrol-2-ona (23,4 g, 48%). LC-MS ESI m/z: 511 (M-1)⁻, T_r = 5,45 min., procedimiento 1.

Preparación 4: 1-(4-trifluorometilfenil)-3-[(1R)-1-(4-clorofenil)-etilamino]-5(R)-(3-trifluorometoxifenil)-1,5-dihidropirrol-2-ona

5

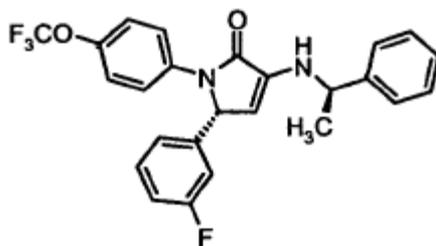
10 Mezclar etanol (120 mL), ácido acético glacial (15 mL), agua (3,0 mL, 164,7 mmol), ácido trifluoroacético (6,2 mL, 82,4 mmol), (\pm)-5-(3-trifluorometoxi-fenil)-1-(4-trifluorometil-fenil)-3-(4-trifluorometil-fenil)-1,5-dihidro-pirrol-2-ona (30,0 g, 54,9 mmol), y 2,5-dimetoxi-tetrahidrofurano (10,7 mL, 82,4 mmol). Calentar la solución a 50°C y agitar la mezcla de reacción durante aproximadamente 18 horas. Suspender el calentamiento de la solución, añadir agua (35 mL) y enfriar la mezcla de reacción a -19°C. Filtrar la suspensión y lavar el sólido con una mezcla 1:4 de agua - metanol (20 mL). Transferir el filtrado a un embudo de separación y lavar con 6% de salmuera (280 mL), añadir 6% salmuera (100 mL), metanol (40 mL), éter dietílico (100 mL), y una solución saturada de bicarbonato sódico (43 mL) a la fase orgánica. Separar las capas, añadir metanol (60 mL) a la fase orgánica, y concentrar la solución a aproximadamente 1 volumen que contiene (\pm)-5-(3-trifluorometoxi-fenil)-1-(4-trifluorometil-fenil)-pirrolidina-2,3-diona. Añadir metanol (60 mL) y (R)-4-cloro-alfa-metilbencilamina (7,8 mL, 55,0 mmol) y agitar a temperatura ambiente durante 24 horas. Supervisar la reacción mediante HPLC, para la terminación, (Procedimiento 4), a continuación, enfriar la solución a -7°C y continuar agitando a esta temperatura durante 72 horas. Añadir una solución premezclada de hidróxido de potasio (0,69 g, 10,5 mmol) en metanol (11 mL) a la mezcla de reacción, calentar la solución a 10°C y agitar durante 4 horas adicionales. Enfriar la solución a -7°C, filtrar la suspensión y enjuagar el producto resultante con metanol (5 mL x 3). Secar el sólido bajo vacío para obtener 1-(4-trifluorometil-fenil)-3-[1(R)-(4-cloro-fenil)-etilamino]-5(R)-(3-trifluorometoxi-fenil)-1,5-dihidro-pirrol-2-ona (12,3 g, 47,7%) como un sólido blanco: LC-MS ESI m/z: 539,0 (M-H)⁻, T_r = 4,3 min., procedimiento 4. ¹H RMN (500 MHz, DMSO- d₆) δ 7,76 (d, 2H, J = 8,5 Hz), 7,62 (d, 2H, J = 9,0 Hz), 7,38-7,36 (m, 2H), 7,30-7,27 (m, 3H), 7,10 (dd, 1H, J = 8,5, 1,0 Hz), 7,05 (d, 1H, J = 7,5 Hz), 6,95 (s, 1H), 6,06 (d, 1H, J = 8,0 Hz), 5,96 (d, 1H, J = 3,0 Hz), 5,22 (d, 1H, J = 3,0 Hz), 4,35-4,32 (m, 1H), 1,43 (d, 3H, J = 6,5 Hz).

30

Preparación 5: 1-(4-trifluorometoxi-fenil)-3-((R)-1-fenil-etilamino)-5(R)-fenil-1,5-dihidro-pirrol-2-ona

35 Añadir ácido acético (464 mL, 8,09 mol), 2,5-dimetoxitetrahidrofurano (393 mL, 3,03 mol), agua (2,27 L) y ácido trifluoroacético (153 mL, 2,02 mol) de manera secuencial a una solución de (\pm)-5-fenil-1-(4-trifluorometoxi-fenil)-3-(4-trifluorometoxi-fenilamino)-1,5-dihidro-pirrol-2-ona (1.000 g, 2,02 mol) en THF (8,43 L). Agitar la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 18 horas. Añadir tolueno (4,0 L) y acetato de isopropilo (2,0 L). Lavar la mezcla con agua (8,0 L) y una solución saturada de hidrogenocarbonato de sodio (6,0 L). Eliminar la capa acuosa. Añadir (R)-(+)- α -metilbencilamina (390 mL, 3,03 mol) a la capa acuosa. Agitar la solución a temperatura ambiente durante 3 horas. Concentrar la mezcla de reacción para obtener una mezcla de 1-(4-trifluorometoxi-fenil)-3-((R)-1-fenil-etilamino)-(5)-(S)-fenil-1,5-dihidro-pirrol-2-ona y 1-(4-trifluorometoxi-fenil)-3-((R)-1-fenil-etilamino)-(R)-5-fenil-1,5-dihidro-pirrol-2-ona como un aceite negro. Disolver la mezcla (888 g, 2,02 mol) en isopropanol (2,0 L) y enfriar a -7°C. Filtrar el precipitado y lavar con isopropanol frío. Secar bajo vacío durante 12 horas para proporcionar 1-(4-trifluorometoxi-fenil)-3-((R)-1-fenil-etilamino)-(R)-5-fenil-1,5-dihidro-pirrol-2-ona (130 g, 29%) como un sólido blanquecino. ¹H RMN (400 MHz, DMSO- d₆) δ 7,64 (d, J = 8 Hz, 2H), 7,34 (d, J = 8 Hz, 2H), 7,24 (m, 4H), 7,11 (m, 4H), 6,98 (d, J = 4 Hz, 2H), 5,78 (m, 2H), 5,13 (s, 1H), 4,30 (m, 1H), 1,44 (d, J = 4Hz 3H). LC-MS ESI m/z: 439 (M+H)⁺, T_r = 6,30 min., procedimiento 1.

45

Preparación 6: 1-(4-trifluorometoxi-fenil)-3-((R)-1-fenil-etilamino)-5 (R)-(3-fluoro-fenil)-1,5-dihidro-pirrol-2-ona

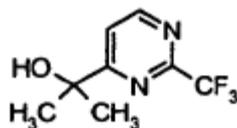
5

Añadir agua (46,8 mL, 2,6 mol), ácido acético (10,5 mL, 182,7 mmol), ácido trifluoroacético (6,9 mL, 91,3 mol) y 2,5-dimetoxitetrahydrofurano (6,5 mL, 50,2 mmol) a una solución de (±)-5-(3-fluoro-fenil)-1-(4-trifluorometoxi-fenil)-3-(4-trifluorometoxifenilamino)-1,5-dihidro-pirrol-2-ona (23,4 g, 45,7 mmol) en THF (45 mL). Agitar la mezcla de reacción a 30°C durante 18 horas. Se observa una formación considerable de (R)-5-(3-fluorofenil)-1-(4-trifluorometoxi-fenil)-pirrolidina-2,3-diona (LC-MS ESI m/z: 352 (M-H)⁻, procedimiento 1). Verter la mezcla de reacción en tolueno (200 mL), acetato de isopropilo (50 mL) y agua (100 mL) y agitar durante 5 min. Separar las capas y lavar la capa orgánica con agua (50 mL) y 5% de solución de hidrogenocarbonato de sodio (50 mL). Añadir (R)-(+)-α-metil bencilamina (7,7 mL, 59,9 mmol) a la capa orgánica. Agitar la solución a temperatura ambiente durante 18 horas. Añadir (R)-(+)-α-metil bencilamina (3,0 mL, 24,8 mmol) y calentar a 30°C durante 3 horas. Lavar la mezcla de reacción con agua y salmuera. Concentrar la mezcla de reacción para obtener una mezcla de 1-(4-trifluorometoxi-fenil)-3-((R)-1-fenil-etilamino)-5(S)-(3-fluoro-fenil)-1,5-dihidro-pirrol-2-one y 1-(4-trifluorometoxi-fenil)-3-((R)-1-fenil-etilamino)-5(R)-(3-fluoro-fenil)-1,5-dihidro-pirrol-2-ona. Disolver la mezcla en isopropanol (70 mL) y agitar a temperatura ambiente durante 72 horas. Filtrar el precipitado y lavar con isopropanol para proporcionar 1-(4-trifluorometoxi-fenil)-3-((R)-1-fenil-etilamino)-5 (R)-(3-fluoro-fenil)-1,5-dihidro-pirrol-2-ona (6,30 g, 30%) como un sólido blanco. LC-MS ESI m/z: 457 (M+H)⁺, T_r = 5,13 min., procedimiento 1.

10

15

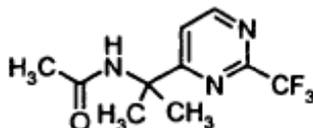
20

Preparación 7: 2-(2-trifluorometil-pirimidin-4-il)-propan-2-ol

25

Enfriar una solución de THF (200 mL) y bromuro de metilmagnesio (3,0 M en éter dietílico, 81 mL, 243 mmol) a 0°C. Añadir una solución de éster metílico de ácido trifluorometilpirimidina-4-carboxílico (16,7 g, 81 mmol) en THF (100 mL) durante un período de 5 min. Agitar durante 30 minutos a 0°C, a continuación, verter lentamente en cloruro amónico acuoso saturado. Extraer la capa acuosa con éter dietílico, combinar las capas orgánicas, secar sobre sulfato sódico, filtrar y concentrar bajo presión reducida para proporcionar 2-(2-trifluorometil-pirimidin-4-il)-propan-2-ol (16,7 g, 100%) como un aceite claro, incoloro. EM (m/z): 207,2 (M+H)⁺.

30

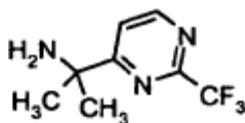
Preparación 8: N-[1-metil-1-(2-trifluorometil-pirimidin-4-il)-etil]-acetamida

35

Calentar una solución de acetonitrilo (300 mL) y 2-(2-trifluorometil-pirimidin-4-il)-propan-2-ol (16,5 g, 80 mmol) a 90°C. En un recipiente de reacción separado, enfriar acetonitrilo (70 mL) a 0°C y añadir ácido sulfúrico (19,2 mL, 360 mmol) a una tasa de manera que la temperatura no exceda de 10°C. Añadir la solución de ácido sulfúrico enfriada a la solución calentada de 2-(2-trifluorometil-pirimidin-4-il)-propan-2-ol y acetonitrilo y agitar a 90°C durante 60 minutos. Enfriar a temperatura ambiente, concentrar a aproximadamente 1/3 del volumen original y añadir 5N NaOH acuoso (150 mL). Repartir entre acetato de etilo y salmuera, a continuación, extraer la capa acuosa con acetato de etilo (3x). Concentrar bajo presión reducida las capas orgánicas combinadas para proporcionar ácido N-[1-metil-1-(2-trifluorometil-pirimidin-4-il)-etil]-acetamida (15,4 g, 78%) como un sólido amarillo. EM (m/z): 248,0 (M+H)⁺.

40

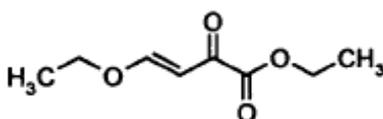
45

Preparación 9: 1-metil-1-(2-trifluorometil-pirimidin-4-il)-etilamina

5

Calentar una solución de N-[1-metil-1-(2-trifluorometil-pirimidin-4-il)-etil]-acetamida (15,4 g, 62 mmol) y 5N HCl acuoso (150 mL) a 100°C durante 20 horas y, a continuación, enfriar a temperatura ambiente. Extraer la reacción con éter dietílico (2X), a continuación, convertir la capa acuosa en alcalina con 5N NaOH acuoso. Extraer la capa acuosa con éter dietílico (3X), secar las capas orgánicas combinadas sobre sulfato de sodio, filtrar y concentrar bajo presión reducida para proporcionar 1-metil-1-(2-trifluorometil-pirimidin-4-il)-etilamina (7,2 g, 56%) como un aceite marrón. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 8,80 (d, J = 5,3 Hz, 1H), 7,68 (d, J = 5,3 Hz, 1H), 1,76 (br s, 2H), 1,49 (s, 6H).

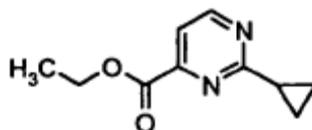
10

Preparación 10: Éster etílico de ácido (E)-4-etoxi-2-oxo-but-3-enoico

15

Referencia: Dujardin, G; Rossignol, S.; Brown, E. Synthesis, 1998, 763-770. Añadir cloroacetato de etilo (67 mL, 600 mmol) a una solución de acetato de paladio (1,35 g, 6 mmol), éter etílico de vinilo (315 mL, 3,3 mol) y trietilamina (125 mL, 900 mmol) a temperatura ambiente. Calentar a 55°C durante 24 horas, enfriar a temperatura ambiente, a continuación, repartir la mezcla de reacción entre éter dietílico y agua. Concentrar la capa orgánica bajo presión reducida para obtener éster etílico de ácido (E)-4-etoxi-2-oxo-but-3-enoico (72 g, 70%) como un aceite marrón. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 7,84 (d, J = 13,2 Hz, 1H), 6,15 (d, J = 13,2 Hz, 1H), 4,29 (q, J = 7,6 Hz, 2H), 4,03 (q, J = 6,8 Hz, 2H), 1,34 (m, 6H).

20

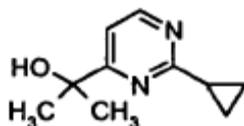
Preparación 11: Éster etílico del ácido 2-ciclopropil-pirimidina-4-carboxílico

25

Referencia: Riley, T. A.; Hennen, W.J.; Dalley, N.K., Wilson, B.E., J. Heterocyclic Chem., 1987, 24, 955-964. Calentar una mezcla de clorhidrato de ciclopropilcarbamidina (2,05 g, 17 mmol), éster etílico de ácido (E)-4-etoxi-2-oxo-but-3-enoico (4,39 g, 25,5 mmol), etanol (12 mL) y sodio etóxido (1,16 g, 17 mmol) en un horno de microondas a 140°C durante 20 min. Concentrar la mezcla de reacción bajo presión reducida y repartir el residuo entre acetato de etilo y salmuera. Separar la capa orgánica y concentrar bajo presión reducida. Purificar el residuo mediante cromatografía en gel de sílice (10-30% acetato de etilo/hexano) para proporcionar éster etílico de ácido 2-ciclopropil-pirimidina-4-carboxílico (1,5 g, 46%) como aceite amarillo claro. EM (m/z): 193,0 (M+H)⁺.

30

35

Preparación 12: 2-(2-ciclopropil-pirimidin-4-il)-propan-2-ol

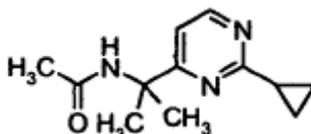
40

Enfriar una solución de THF (150 mL) y bromuro de metilmagnesio (3,0 M en éter dietílico, 52 mL, 243 mmol) a 0°C. Añadir una solución de éster etílico de ácido 2-ciclopropil-pirimidina-4-carboxílico (9,9 g, 52 mmol) en THF (50 mL) durante un período de 5 min. Agitar durante 45 minutos a 0°C, a continuación, verter lentamente en cloruro amónico acuoso saturado. Extraer la capa acuosa con éter dietílico, secar las capas orgánicas combinadas sobre sulfato sódico,

filtrar y concentrar bajo presión reducida para proporcionar 2-(2-ciclopropil-pirimidin-4-il)-propan-2-ol (9,15 g, 100%) como un sólido naranja. EM (m/z): 179,0 (M+H)⁺.

Preparación 13: N-[1-(2-ciclopropil-pirimidin-4-il)-1-metil-etil]-acetamida

5

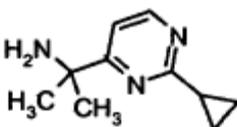


10

Calentar una solución de acetonitrilo (150 mL) y 2-(2-ciclopropil-pirimidin-4-il)-propan-2-ol (8,85 g, 50 mmol) a 90°C. En un recipiente de reacción separado, enfriar acetonitrilo (50 mL) a 0°C y añadir ácido sulfúrico (11,9 mL, 223 mmol) a una tasa tal que la temperatura no exceda de 10°C. Añadir la solución de ácido sulfúrico enfriada a la solución calentada de 2-(2-ciclopropil-pirimidin-4-il)-propan-2-ol y acetonitrilo y agitar a 95°C durante 4 días. Enfriar a temperatura ambiente y añadir 5N NaOH acuoso (100 mL). Extraer la capa acuosa con acetato de etilo (3x). Concentrar las capas orgánicas combinadas bajo presión reducida para proporcionar N-[1-(2-ciclopropil-pirimidin-4-il)-1-metil-etil]-acetamida (4,5 g, 41%) como un aceite amarillo. EM (m/z): 220,0 (M+H)⁺.

15

Preparación 14: 1-(2-ciclopropil-pirimidin-4-il)-1-metil-etilamina



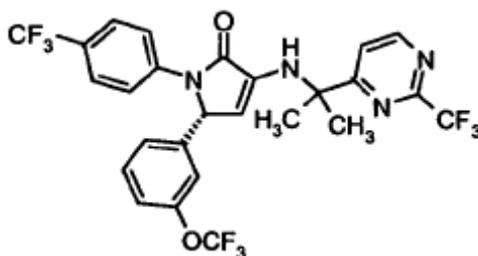
20

Calentar una solución de N-[1-(2-ciclopropil-pirimidin-4-il)-1-metil-etil]-acetamida (4,5 g, 20,5 mmol) y 5N HCl acuoso (125 mL) a 100°C durante 18 horas. Enfriar la mezcla a temperatura ambiente. Extraer la reacción con éter dietílico (2X) y, a continuación, convertir la capa acuosa en alcalina con 5N NaOH acuoso. Extraer la capa acuosa con éter dietílico (3X), secar las capas orgánicas combinadas sobre sulfato de sodio, filtrar y concentrar bajo presión reducida para proporcionar 1-(2-ciclopropil-pirimidin-4-il)-1-metil-etilamina (1,3 g, 36%) como un aceite de color amarillo oscuro. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 8,45 (d, J = 5,6 Hz, 1H), 7,12 (d, J = 5,6 Hz, 1H), 2,30 (m, 1H), 1,76 (br s, 2H), 1,41 (s, 6H), 1,09 (m, 2H), 1,02 (m, 2H).

25

Preparación 15: (R)-3-[1-metil-1-(2-trifluorometil-pirimidin-4-il)-etilamino]-1-(4-trifluorometil-fenil)-5-(3-trifluorometoxi-fenil)-1,5-dihidro-pirrol-2-ona

30



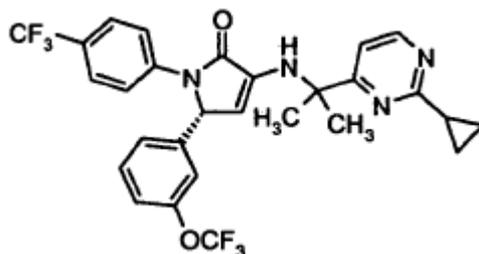
35

Añadir ácido trifluoroacético (7,56 mL, 100 mmol) a una solución de 1-(4-trifluorometilfenil)-3-[(R)-1-(4-clorofenil)-etilamino]-3(R)-(3-trifluorometoxi-fenil)-1,5-dihidro-pirrol-2-ona (10,8 g, 20,0 mmol) en ácido acético (100 mL) y agua (5 mL). Agitar a temperatura ambiente durante 60 min. Se observa una formación considerable de (R)-5-(3-trifluorometoxi-fenil)-1-(4-trifluorometil-fenil)-pirrolidina-2,3-diona (LC-MS ESI m/z: 426 (M+Na)⁺, T_r = 2.76 min., procedimiento 2). Diluir la reacción con tolueno (200 mL) y agua (150 mL). Lavar la capa orgánica con agua y solución acuosa saturada de bicarbonato sódico. Filtrar la capa orgánica a través de sulfato sódico. Añadir ácido acético (9,17 mL, 160 mmol) y 1-metil-1-(2-trifluorometil-pirimidin-4-il)-etilamina (4,51 g, 22 mmol) a esta solución de tolueno que contiene (R)-5-(3-trifluorometoxi-fenil)-1-(4-trifluorometil-fenil)-pirrolidina-2,3-diona. Calentar a 55°C durante 18 horas. Concentrar la mezcla de reacción bajo presión reducida para proporcionar un aceite de color púrpura oscuro. Purificar el residuo mediante cromatografía en gel de sílice (25% de acetato de etilo-hexano) para obtener (R)-3-[1-metil-1-(2-trifluorometil-pirimidin-4-il)-etilamino]-1-(4-trifluorometil-fenil)-5-(3-trifluorometoxi-fenil)-1,5-dihidro-pirrol-2-ona (7,70 g, 65%) como una espuma de color púrpura. LC-MS ESI m/z: 613 (M+Na)⁺, T_r = 3.35 min., procedimiento 2.

40

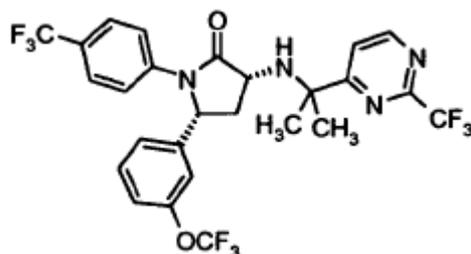
45

Preparación 16: (R)-3-[1-(2-ciclopropil-pirimidin-4-il)-1-metil-etilamino]-5-(3-trifluorometoxi-fenil)-1-(4-trifluorometil-fenil)-1,5-dihidro-pirrol-2-ona



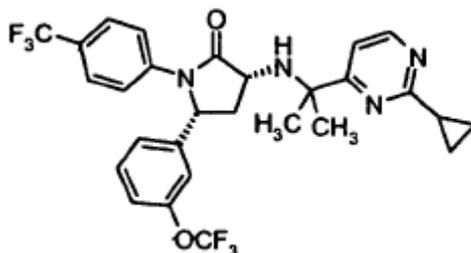
Preparar el compuesto del título esencialmente tal como se describe en el procedimiento de la Preparación 15, usando 1-(2-ciclopropil-pirimidin-4-il)-1-metil-etilamina. Rendimiento 38%, LC-MS ESI m/z: 563 (M+H)⁺, T_r = 3.46 min, procedimiento 2.

Ejemplo 1: (3R,5R)-3-[1-metil-1-(2-trifluorometil-pirimidin-4-il)-etilamino]-5-(3-trifluorometoxi-fenil)-1-(4-trifluorometil-fenil)-pirrolidin-2-ona



Enfriar una solución de (R)-3-[1-metil-1-(2-trifluorometil-pirimidin-4-il)-etilamino]-1-(4-trifluorometil-fenil)-5-(3-trifluorometoxi-fenil)-1,5-dihidro-pirrol-2-ona (7,5 g, 12,7 mmol) en ácido acético (60 mL) y THF (15 mL) a 0°C y añadir cianoborohidruro sódico (1,60 g, 25,4 mmol). Eliminar el baño refrigerante después de 5 minutos y agitar 60 minutos a temperatura ambiente. Diluir la mezcla de reacción con acetato de etilo y verter lentamente en una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio. Separar la capa orgánica y concentrar bajo presión reducida. Purificar el residuo mediante cromatografía en gel de sílice (15-40% de acetato de etilo-hexano) para obtener (3R,5R)-3-[1-metil-1-(2-trifluorometil-pirimidin-4-il)-etilamino]-5-(3-trifluorometoxi-fenil)-1-(4-trifluorometil-fenil)-pirrolidin-2-ona (5,20 g, 69%) como una espuma de color púrpura. Para eliminar el color púrpura, disolver (3R,5R)-3-[1-metil-1-(2-trifluorometil-pirimidin-4-il)-etilamino]-5-(3-trifluorometoxi-fenil)-1-(4-trifluorometil-fenil)-pirrolidin-2-ona en metanol (150 mL) y añadir carbón activado. Agitar a temperatura ambiente durante 20 minutos, filtrar y concentrar bajo presión reducida para proporcionar una espuma blanca (4,6 g, 88%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 8,79 (d, J = 5,3 Hz, 1H), 7,90 (d, J = 5,3 Hz, 1H), 7,46 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,36 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 7,27 (t, J = 7,9 Hz, 1H), 7,08 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 7,04 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,98 (s, 1H), 5,04 (dd, J = 6,2, 9,7 Hz, 1H), 3,51-3,45 (m, 1H), 2,90-2,81 (m, 1H), 1,89-1,81 (m, 1H), 1,56 (s, 3H), 1,50 (s, 3H). LC-MS ESI m/z: 593 (M+H)⁺, T_r = 3.07 min, procedimiento 2.

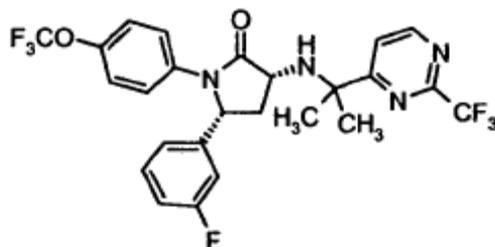
Ejemplo 2: (3R,5R)-3-[1-(2-ciclopropil-pirimidin-4-il)-1-metil-etilamino]-5-(3-trifluorometoxi-fenil)-1-(4-trifluorometil-fenil)-pirrolidin-2-ona



Preparar el compuesto del título esencialmente tal como se ha descrito para el procedimiento del Ejemplo 1, manteniendo la reacción a -10°C y usando 1 eq de cianoborohidruro de sodio. Rendimiento 42%, ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 8,46 (d, J = 4,8 Hz, 1H), 7,44 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,36 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 7,28-7,24 (m, 2H), 7,08 (d, J = 7,5

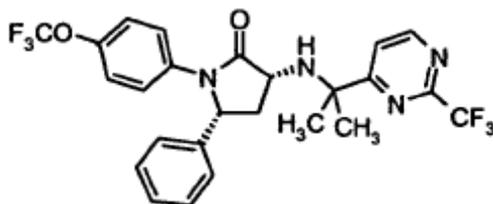
Hz, 1H), 7,03 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 6,98 (s, 1H), 5,00 (dd, J = 6,2, 10,1 Hz, 1H), 3,36 (dd, J = 7,9, 10,6 Hz, 1H), 3,30-3,25 (br s, 1H), 2,84-2,77 (m, 1H), 2,23-2,16 (m, 1H), 1,91-1,82 (m, 1H), 1,47 (s, 3H), 1,42 (s, 3H), 1,18-1,8 (m, 2H), 1,05-0,97 (m, 2H). LC-MS ESI m/z: 565 (M+H)⁺, T_r = 2,49 min., procedimiento 2.

Ejemplo 3: (3R,5R)-3-[1-metil-1-(2-trifluorometil-pirimidin-4-il)-etilamino]-5-(3-fluoro-fenil)-1-(4-trifluorometoxi-fenil)-pirrolidina-2-ona



Agitar una mezcla de 1-(4-trifluorometoxi-fenil)-3-((R)-1-fenil-etilamino)-5(R)-(3-fluoro-fenil)-1,5-dihidro-pirrol-2-ona (685 mg, 1,5 mmol), THF (4 mL), agua (1 mL), 2,5-dimetoxitetrahydrofurano (0,23 mL, 1,8 mmol), ácido acético (0,34 mL, 6,0 mmol) y ácido trifluoroacético (0,23 mL, 3,0 mmol) a 35°C durante 18 horas. Se observa una formación considerable de (R)-5-(3-fluoro-fenil)-1-(4-trifluorometoxi-fenil)-pirrolidina-2,3-diona (LC-MS ESI m/z: 354 (M+H)⁺, T_r = 2,65 min., procedimiento 2). Verter la reacción en solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio y diluir con 10 mL de 1:1 tolueno:acetato isopropílico. Separar la capa orgánica y filtrar a través de sulfato sódico. Añadir ácido acético (0,69 mL, 12,0 mmol) y 1-metil-1-(2-trifluorometil-pirimidin-4-il)-etilamina (339 mg, 1,65 mmol) a esta solución que contiene (R)-5-(3-fluoro-fenil)-1-(4-trifluorometoxi-fenil)-pirrolidina-2,3-diona. Calentar a 55°C durante 24 horas. Concentrar la mezcla de reacción para proporcionar un aceite de color púrpura oscuro. Se observa una formación considerable de 3-[1-metil-1-(2-trifluorometil-pirimidin-4-il)-etilamino]-1-(4-trifluorometoxifenil)-5(R)-(3-fluoro-fenil)-1,5-dihidro-pirrol-2-ona (LC-MS ESI m/z: 541 (M+H)⁺, T_r = 3,32 min, procedimiento 2). Disolver la 3-[1-metil-1-(2-trifluorometil-pirimidin-4-il)-etilamino]-1-(4-trifluorometoxifenil)-5(R)-(3-fluoro-fenil)-1,5-dihidro-pirrol-2-ona cruda en ácido acético (6 mL) y THF (1,5 mL), enfriar a 0°C, y añadir cianoborohidruro de sodio (189 mg, 3,0 mmol). Eliminar el baño refrigerante después de 5 minutos y agitar 30 minutos a temperatura ambiente. Diluir la reacción con acetato de etilo y verterla lentamente en una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio. Concentrar la capa orgánica bajo presión reducida y purificar el residuo mediante cromatografía en gel de sílice (10-35% acetato de etilo-hexano) para obtener (3R,5R)-3-[1-metil-1-(2-trifluorometil-pirimidin-4-il)-etilamino]-5-(3-fluoro-fenil)-1-(4-trifluorometoxi-fenil)-pirrolidina-2-ona (340 mg, 41%) como una espuma. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 8,79 (d, J = 5,3 Hz, 1H), 7,92 (d, J = 5,3 Hz, 1H), 7,29-7,26 (m, 2H), 7,22-7,18 (m, 1H), 7,05 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 6,93 (d, J = 7,5 Hz, 1H), 6,90-6,83 (m, 2H), 4,96 (dd, J = 6,2, 9,7 Hz, 1H), 3,45 (dd, J = 8,1, 10,8 Hz, 1H), 2,84-2,77 (m, 1H), 1,88-1,80 (m, 1H), 1,56 (s, 3H), 1,49 (s, 3H). LC-MS ESI m/z: 543 (M+H)⁺, T_r = 2,97 min., procedimiento 2.

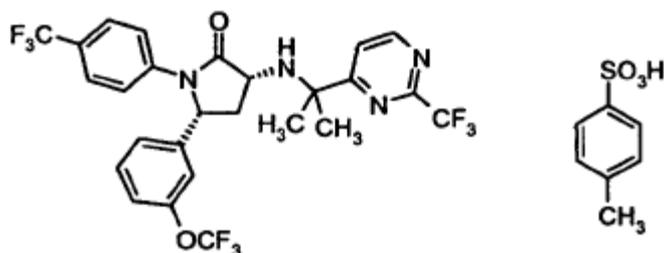
Ejemplo 4: (3R,5R)-3-[1-metil-1-(6-trifluorometil-piridin-2-il)-etilamino]-5-fenil-1-(4-trifluorometoxi-fenil)-pirrolidina-2-ona



Preparar el compuesto del título esencialmente tal como se ha descrito en el procedimiento del Ejemplo 3. Rendimiento 47%. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 8,77 (d, J = 5,3 Hz, 1H), 7,93 (d, J = 5,3 Hz, 1H), 7,28 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 7,25-7,17 (m, 2H), 7,16-7,13 (m, 3H), 7,02 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 4,96 (dd, J = 6,2, 9,7 Hz, 1H), 3,46 (dd, J = 7,9, 10,6 Hz, 1H), 2,83-2,76 (m, 1H), 1,91-1,83 (m, 1H), 1,56 (s, 3H), 1,49 (s, 3H). LC-MS ESI m/z: 525 (M+H)⁺, T_r = 2,92 min, procedimiento 2.

Ejemplo 5: Tosilato de (3R,5R)-3-[1-metil-1-(2-trifluorometil-pirimidin-4-il)-etilamino]-5-(3-trifluorometoxi-fenil)-1-(4-trifluorometil-fenil)-pirrolidin-2-ona

5



10

Disolver (3R,5R)-3-[1-metil-1-(2-trifluorometil-pirimidin-4-il)-etilamino]-5-(3- trifluorometoxi-fenil)-1-(4-trifluorometil-fenil)-pirrolidin-2-ona (4,57 g, 7,71 mmol) en isopropanol (10 mL). Añadir monohidrato de ácido p-toluensulfónico (1,49 g, 7,71 mmol) y calentar a 45°C hasta que la solución es homogénea. Enfriar a temperatura ambiente y añadir cristales de siembra. Dejar reposar a temperatura ambiente durante 64 horas. Filtrar el precipitado y lavar con heptano. Secar bajo vacío durante 4 horas para proporcionar tosilato de (3R,5R)-3-[1-metil-1-(2-trifluorometil-pirimidin-4-il)-etilamino]-5-(3-trifluorometoxi-fenil)-1-(4-trifluorometil-fenil)-pirrolidin-2-ona (5,06 g, 86%) como un polvo blanco. LC-MS ESI m/z: 593 (M+H)⁺, T_r = 4,92 min, procedimiento 1.

15

Formación de cristales de siembra

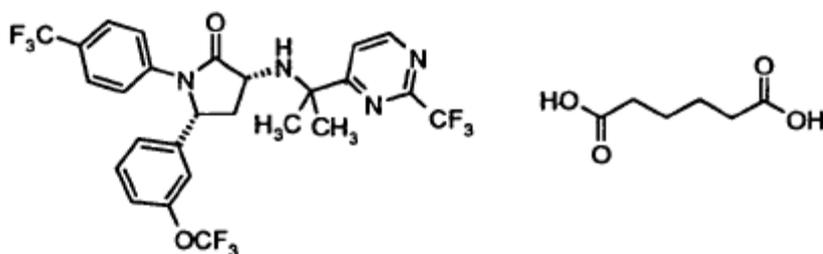
20

Disolver (3R,5R)-3-[1-metil-1-(2-trifluorometil-pirimidin-4-il)-etilamino]-5-(3-trifluorometoxi-fenil)-1-(4-trifluorometil-fenil)-pirrolidin-2-ona (61,4 mg, 104 μmol) en isopropanol (1 mL). Añadir monohidrato de ácido p-toluensulfónico (20,0 mg, 104 μmol) para proporcionar una solución homogénea. Añadir tosilato de (3R,5R)-3-[1-metil-1-(6-trifluorometil-piridin-3-il)-etilamino]-5-(3-trifluorometoxi-fenil)-1-(4-trifluorometil-fenil)-pirrolidin-2-ona (<1 mg) para iniciar la cristalización. Exponer la solución a la atmósfera y dejar que se evapore hasta la sequedad durante 18 horas para proporcionar tosilato de (3R,5R)-3-[1-metil-1-(2-trifluorometil-pirimidin-4-il)-etilamino]-5-(3-trifluorometoxi-fenil)-1-(4- trifluorometil-fenil)-pirrolidin-2-ona (77 mg, 97%) como un sólido blanquecino.

25

Ejemplo 6: Adipato de (3R,5R)-3-[1-metil-1-(2-trifluorometil-pirimidin-4-il)-etilamino]-5-(3- trifluorometoxi-fenil)-1-(4-trifluorometil-fenil)-pirrolidin-2-ona

30



35

Disolver (3R,5R)-3-[1-metil-1-(2-trifluorometil-pirimidin-4-il)-etilamino]-5-(3-trifluorometoxi-fenil)-1-(4-trifluorometil-fenil)-pirrolidin-2-ona (105 mg, 0,177 mmol) en metanol (0,8 mL) y acetato de etilo (2 mL). Añadir ácido adipico (30 mg, 0,20 mmol) y evaporar a temperatura ambiente durante la noche para proporcionar un equilibrio de masas cuantitativo de adipato de (3R,5R)-3-[1-metil-1-(2-trifluorometil-pirimidin-4-il)-etilamino]-5-(3-trifluorometoxi-fenil)-1-(4-trifluorometil-fenil)-pirrolidin-2-ona (129 mg, 100%) como un sólido confitado: ES/MS m/z: 593,0 [M+H]⁺.

40

Tal como se ha indicado, los compuestos de la presente invención son agonistas inversos o antagonistas selectivos y muy potentes del receptor CB-1 y, por lo tanto, son útiles en el tratamiento de diversos trastornos en virtud de esta farmacología. Pueden usarse los ensayos siguientes para demostrar la actividad de receptor de CB-1 reivindicada de los compuestos, su selectividad para el receptor CB-1 y su actividad en modelos animales de diversos trastornos que se consideran tratables mediante agonismo inverso o antagonismo del receptor CB-1.

45

Cabe señalar que, por definición, un antagonista puro inhibe la activación mediada por ligando de un receptor (es decir, bloquea la estimulación del receptor dependiente de agonista). Algunos receptores, incluyendo el receptor CB-1, producen la transducción de señales, incluso en ausencia de los agonistas (endógenos/exógenos), lo que se conoce como la actividad basal del receptor o actividad constitutiva. Con dichos receptores, los agonistas inversos no sólo inhiben la estimulación dependiente de agonista del receptor, sino que también reducen/inhiben la actividad basal del receptor. Debido a que esos receptores CB-1 tienen actividad de señalización basal, se prefieren los agonistas inversos

a los antagonistas puros, como agentes terapéuticos para trastornos mediados por CB-1. Los compuestos de la presente invención son agonistas inversos o antagonistas selectivos del receptor CB-1.

Ensayos funcionales *in vitro* en CB₁ y CB₂

Los compuestos de la presente invención pueden ser ensayados para la actividad funcional en los receptores CB-1 y CB-2 en modos agonista y antagonista usando SPA (ensayo de proximidad de centelleo) basado en ensayos de unión GTP- γ -³⁵S. Todos los componentes de ensayo se preparan en tampón de ensayo (20 mM HEPES, 100 mM de NaCl, 5 mM MgCl₂, pH 7,4) a temperatura ambiente. Se preparan diluciones semi-logarítmicas del compuesto de ensayo en tampón de ensayo que contiene BSA (0,125% conc. final.) para los ensayos de modo agonista. Para los ensayos de modo antagonista, los compuestos de ensayo se preparan de la misma manera, pero incluyen también un 80% de dosis eficaz de un agonista completo (metanandamida). La unión GTP- γ -³⁵S para el ensayo de antagonista puede ser medida en un formato de 96 pocillos usando una modificación de una técnica de captura de anticuerpos descrita anteriormente. (DeLapp, NW, et al. (1999) J Pharmacol Exp Ther 289:946-955). La actividad agonista del receptor CB-2 puede ser medida usando un procedimiento similar usando membranas hCB2-Sf9. La actividad agonista del receptor CB-1 puede ser medida mediante una técnica de captura de membrana completa usando membranas hCB1-CHO. Todas las incubaciones se realizan a temperatura ambiente.

Ensayos en modo antagonista

Ensayos de antagonista de hCB1-CHO y rCB1-CHO:

Las membranas hCB1-CHO o rCB1-CHO (Applied Cell Sciences, Rockville, MD) y GDP (1 μ M final) se añaden a tampón de ensayo enfriado con hielo y se homogenizan. Los compuestos diluidos, GTP- γ -³⁵S (500 nM conc. final) y las membranas se añaden a los pocillos de una placa de ensayo y se incuban durante 30 minutos a temperatura ambiente. A continuación, una mezcla que contiene un detergente Nonidet P40 (0,2% conc. final), anticuerpo policlonal de conejo IgG G α -₃ (proporcionado por Covance, Princeton, NJ), y se añaden 1,25 mg de granos de ensayo de proximidad de centelleo de anticuerpo anti-conejo (GE Healthcare, Piscataway, NJ). Las placas son selladas, agitadas e incubadas durante 2 h adicionales. A continuación, las placas son centrifugadas a 700 x g durante 10 minutos y se realiza un conteo de la radiactividad.

Ensayos de antagonista hCB1-Sf9 y hCB2-Sf9:

Se preparan membranas hCB1-Sf9 y hCB2-Sf9 (Perkin Elmer, Boston, MA) esencialmente como anteriormente, con 1 μ M (conc. final) GDP para hCB1-Sf9 y 0,05 μ M (conc. final.) GDP para hCB2-Sf9. El ensayo es ejecutado esencialmente tal como se ha descrito para las membranas CHO anteriores. Las membranas diluidas son pre-incubadas con compuesto de ensayo durante 15 min, seguido por la adición de GTP- γ -³⁵S y una incubación adicional durante 35 minutos. Se añaden, secuencialmente, Nonidet P40 y anticuerpo anti-G_i con una incubación de 15 minutos después de cada adición. A continuación, se añaden los granos SPA, las placas son selladas y agitadas y, a continuación, se incuban a temperatura ambiente durante 1 h.

Ensayo en modo agonista

Ensayo agonista hCB1-CHO:

La membrana hCB1-CHO, GDP (1 μ M conc. final) y saponina (10 μ g/mL conc. final, Sigma, St. Louis, MO) son combinadas y preparadas en hielo al igual que para los ensayos de antagonistas anteriores. Los compuestos de ensayo diluidos, GTP- γ -³⁵S (500 nM conc. final) y las membranas se combinan en la placa de ensayo y se incuban durante 30 min. A continuación, se añade 1 mg/pocillo de granos SPA de aglutinina de germen de trigo (GE Healthcare, Piscataway, NJ), las placas son selladas y agitadas e incubadas durante 1 hora antes de centrifugar y realizar un recuento de la misma manera que para los ensayos de antagonistas, descritos anteriormente.

Ensayo de agonista hCB2-Sf9:

El ensayo hCB2-Sf9 se ejecuta esencialmente como para los ensayos de antagonistas hCB1-Sf9 y hCB2-Sf9 anteriores, sin agonista competidor añadido. Se añade GDP 1 μ M (conc. final.) a la solución de membrana y se añaden Nonidet P40, anticuerpo anti-G_i y granos SPA, en un cóctel.

Los datos se analizan de la manera siguiente: se resta la señal de fondo de todos los pocillos. El porcentaje de eficacia de agonista se determina normalizando los datos de respuesta a dosis de agonista/agonista inverso a la respuesta obtenida para un agonista completo (metanandamida). El porcentaje de inhibición antagonista se calcula normalizando, en primer lugar, los datos a la señal generada por una concentración de saturación del agonista completo (metanandamida). A continuación, los datos se analizan usando un ajuste logístico reducido de 4 parámetros (Activity BaseTM y XLFit3TM de IDBS, Emeryville, CA). Los valores K_b se determinan usando una modificación de la relación de Cheng-Prusoff: K_b = IC50 / (1+[agonista] / EC50), donde "IC50" se determina a partir de un ajuste de cuatro parámetros

de las curvas de desplazamiento, "[agonista]" es el concentración (nM) de agonista competidor, y "EC50" se determina a partir de un ajuste de cuatro parámetros de una curva de respuesta de concentración de agonista completo (Cheng y Prusoff 1973). Los valores K_b medios se calculan como una media de al menos tres determinaciones independientes \pm error estándar de la media (SEM). (Cheng YC y Prusoff WH (1973), Biochem Pharmacol 22:3099-3108). Se encuentra que los compuestos ejemplificados son potentes agonistas inversos de CB-1 ($K_b \leq 10$ nM, típicamente < 2 nM) y que son selectivos para el receptor CB-2 ($K_b_{CB-2}/K_b_{CB-1} > 500$, típicamente > 1.000).

Las Tablas 6 y 7 resumen las propiedades agonistas inversos/antagonistas de ciertos compuestos de la presente invención. Los datos indican que los compuestos de ensayo son potentes agonistas inversos CB-1, tanto en receptores de ratas como de seres humanos y son selectivos en los receptores CB-2 humanos. La eficacia agonista menor de cero indica que los compuestos disminuyen la actividad basal (constitutiva) del receptor CB-1 *in vitro*, lo que caracteriza a los compuestos como agonistas inversos en el receptor CB-1.

Tabla 6

Nº de ejemplo	Antagonista membrana rCB-1 SPA GTPγS CHO	Antagonista membrana hCB-1 SPA GTPγS CHO	Antagonista membrana hCB-2 SPA GTPγS Sf9
1	0,177	0,895	>8.710
2		0,644	>10.800
3	0,195	0,916	397
4	0,176	0,83	288
Todos los valores son: K_b nM			

Tabla 7

Nº de ejemplo	Agonista membrana hCB-1 SPA GTPγS CHO		Agonista membrana hCB-2 SPA GTPγS Sf9
	EC ₅₀ inversa relativa (nM)	% de eficacia relativa	EC ₅₀ relativa (nM)
1	0,558	-99,3	>8.710
2	2,39	-108	>10.800
3	1,11	-107	379
4	2,52	-105	288

Ensayo de natación forzada (FST)

El ensayo de natación forzada es un modelo animal establecido para la depresión, la ansiedad y la abulia (falta de motivación) (Porsolt, et al. Nature (1977) 266, 730) (J.M. Witkin et al., Trends Pharmacol Sci. 2005 26:609-17). Puede ser usado también como un modelo para el tratamiento de los síntomas negativos de la esquizofrenia.

Ratones NIH Swiss machos (Harlan Sprague-Dawley) son alojados, 12 ratones por jaula, durante 7-10 días, antes del ensayo. En el día del ensayo, los ratones de 25-30 g de peso, son llevados a la sala de ensayo, al menos 1 hora antes de la dosificación. La dosis es proporcionada (p.o.) a los ratones, a intervalos de 6-8 minutos, con portador (1% de CMC/0.5% de SLS/0,08% de povidona/0.05 antiespumante para agonistas CB1 inversos) o compuesto de ensayo y son colocados en una jaula limpia (4 ratones por jaula).

Para realizar el ensayo, los ratones son colocados individualmente en cilindros de plástico transparente (de aproximadamente 10 cm de diámetro x 25 cm de altura) llenos, hasta 6 cm, con agua a 22-25°C, durante seis minutos. Se registra la duración de la inmovilidad durante los últimos 4 minutos. Un ratón se considera inmóvil cuando flota inmóvil o realiza solamente los movimientos necesarios para mantener su cabeza fuera del agua.

El tiempo de inmovilidad (en segundos) es analizado mediante ANOVA usando el ensayo de Dunnett. La dosis eficaz mínima (MED) se considera como la dosis más baja del compuesto de ensayo con la que se observa una disminución

estadísticamente significativa en el tiempo de inmovilidad con respecto al control con portador.

Biodisponibilidad

Los procedimientos para acceder a la biodisponibilidad son bien apreciados en la técnica. Una de dichas referencias es Medicinal Research Reviews, Vol 21 No. 5 382-396 (2001). La biodisponibilidad de los compuestos puede ser estimada, esencialmente, como se indica a continuación.

Se usan cohortes de tres o cuatro ratas Sprague-Dawley, macho, de 250-450 gramos, o perros Beagle (hembras o machos), de aproximadamente 10 kg. Los animales no necesitan permanecer en ayunas para la parte i.v. del estudio. Se realiza una administración i.v. a los perros mediante vena cefálica canulada y las extracciones de sangre se realizan en la vena yugular. En primer lugar, se realiza una dosificación i.v. de 0,25 mg/kg a los animales y, a continuación, se recogen muestras de sangre (0,2 mL) usando EDTA como un anticoagulante a 0,0830, 0,25, 0,50, 1, 2, 4, 8, 12, 24, 48, 72, 96 y 120 horas. A continuación, después de al menos dos días y después de 18-24 horas de ayuno, los animales reciben una dosis de 1,0 mg/kg por sonda oral. Durante el curso de un estudio, el total de sangre (mL) recogida no excede del 1% del peso corporal total, en gramos. En caso de requerirse mayores volúmenes de sangre, el volumen de sangre muestreada es reemplazada con sangre entera heparinizada de un animal donante. Cuando se usa un diseño de estudio cruzado, las ratas reciben un volumen de sangre completa heparinizada, después de la muestra final de cada día de estudio, aproximadamente igual a la eliminada durante el estudio.

Las concentraciones en plasma del compuesto se miden mediante ensayos LC/MS/MS. A continuación, los datos se analizan usando un análisis farmacocinético no compartimental estándar. La biodisponibilidad oral se calcula como se indica a continuación:

$$(AUC_{0-\infty, \text{oral}} / AUC_{0-\infty, \text{i.v.}}) \times (\text{Dosis, i.v.} / \text{Dosis, oral}) \times 100\%$$

El compuesto del Ejemplo 5 es ensayado y se encuentra que tienen una biodisponibilidad oral en ratas como se indica a continuación:

Ratas SD macho, en ayunas

IV: 0,25 mg/kg, formulación: 20% v/v de MEOP / 80% v/v de agua purificada

PO: mg/kg, formulación: 1% NaCMC / 0,5% de SLS / 0,05% de antiespumante en agua purificada

La biodisponibilidad oral es de 51 +/- 19% (s.d. de la media, n = 3 ratas) y se basa en $AUC_{0-24\text{horas}}$.

Toma de huellas CYP en seres humanos

La toma de huellas CYP es una técnica bien establecida y se usa como una indicación del riesgo potencial de interacciones fármaco-fármaco en las ciencias farmacéuticas. Los compuestos de la presente invención pueden ser ensayados mediante procedimientos bien conocidos, esencialmente, tal como se indica a continuación: Los compuestos se incuban a 37°C, a una concentración final de 4 µM, con microsomas de hígado humano, de género mixto, recogidos y 1 mM de NADPH (nicotinamida adenina dinucleótido fosfato) (conc. final.) durante 0 y 30 minutos, sin ningún inhibidor de CYP y con cada inhibidor CYP en incubaciones separadas durante 30 min. Cada inhibidor es específico para un citocromo P450 individual. Los inhibidores específicos usados para los CYPs 2C9, 2D6 y 3A son sulfafenazol, quinidina y ketoconazol, respectivamente. El ketoconazol (CYP3A) se realiza con 25 mM en DMSO y, a continuación, es diluido en tampón a una concentración final de 10 µM. La quinidina (CYP2D6) se realiza con 5 mM 50/50 acetonitrilo/agua y, a continuación, se diluye en un tampón a una concentración final de 10 µM. El sulfafenazol (CYP2C9) se realiza con 100 mM en DMSO y, a continuación, se diluye en un tampón a una concentración final de 5 µM. Las muestras se analizan mediante LC-MS en modo electrospray positivo o negativo usando un Waters Acquity Ultra Performance LC acoplado a un espectrómetro de masas Micromass Q-T of-2.

Los datos se analizan mediante MetaboLynx™ versión 4.1. Con inhibidor presente, una reducción en el área del pico del metabolito de menos del 30% (en relación a la incubación de control desinhibida) recibe una designación de riesgo bajo de interacción fármaco-fármaco ("Drug Drug Interaction", DDI), una reducción en el área del pico entre el 30% y el 70% recibe un riesgo moderado de DDI y una reducción de más del 70% recibe un riesgo alto de DDI.

Los compuestos ejemplificados se ensayan esencialmente tal como se ha descrito y se encuentra que tienen huellas dactilares CYP tal como se indica a continuación:

Tabla 6

Riesgo de interacción fármaco-fármaco (DDI)			
Nº ejemplo	CYP3A	CYP2D6	CYP2C9
1	Bajo	Bajo	Bajo
2	Bajo	Bajo	Bajo
3	Bajo	Bajo	Bajo
4	Bajo	Bajo	Bajo
5	Bajo	Bajo	
6	Bajo	Bajo	

Eficacia in vivo en modelos de alimentación.

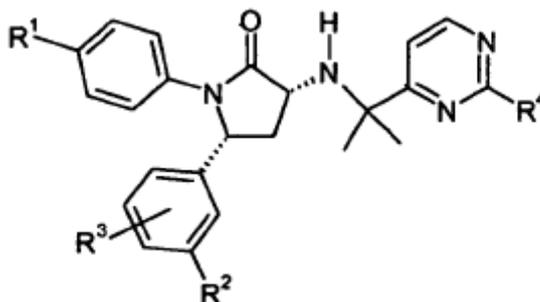
5 La capacidad de los compuestos de la presente invención para reducir el peso corporal puede ser ensayada en un modelo de alimentación de rata, esencialmente tal como se indica a continuación. Establecer ratas Long-Evans, macho, con obesidad inducida por dieta (DIO), mediante alimentación ad libitum, recién destetado, con una dieta que consiste en aproximadamente el 40% de grasa, aproximadamente el 39% de hidratos de carbono y aproximadamente el 21% de contenido calórico protéico, durante al menos 12 semanas. Administrar un portador o el compuesto de ensayo a las cohortes de ratas (p.o., una vez al día) durante dos semanas. Determinar la potencia del compuesto como la dosis requerida para producir una diferencia de 17 gramos en comparación con el grupo con portador después del tratamiento durante dos semanas (potencia T 17). Esto representa una reducción mínima, biológicamente relevante, del 3-4% del peso corporal en comparación con el tratamiento con portador después de 2 semanas.

Modelo antipsicótico de ganancia de peso:

15 La capacidad de los compuestos de la presente invención para mantener/reducir el peso corporal durante un tratamiento con antipsicóticos puede ser ensayada en un modelo de alimentación de rata, esencialmente tal como se indica a continuación. Mantener ratas Sprague-Dawley hembras, adultas, delgadas, ad libitum con comida normal para roedores Purina LabDiet 5001 (12,3% de grasa) y agua. Tratar un grupo (n ~ 7) con portador (1% de ácido láctico) en los días 1-14, mientras se trata el resto con olanzapina (2 mg/kg, po). Después de la ingesta de alimentos, supervisar el peso corporal y el cambio de masa grasa durante un tratamiento de dos semanas. Después de 14 días de suministro de fármacos, dividir los animales tratados con olanzapina (n ~ 8 por grupo) y tratar un grupo con 0,3 mg/kg de compuesto de ensayo más olanzapina, tratar un segundo grupo con 1 mg/kg de compuesto de ensayo más olanzapina y tratar el grupo final con portador más olanzapina, durante los días 15-28.

REIVINDICACIONES

1. Compuesto de Fórmula



5

10 R^1 es seleccionado de entre el grupo consistente en hidrógeno, cloro, ciano, trifluorometilo difluorometoxi y trifluorometoxi;

R^2 es seleccionado de entre el grupo consistente en hidrógeno, halo, ciano, alquilo (C_1 - C_3) sustituido con de 1 a 5 grupos flúor, y alcoxi (C_1 - C_3) sustituido con de 1 a 5 grupos flúor;

R^3 es seleccionado de entre el grupo consistente en hidrógeno, flúor y cloro;

15 R^4 es seleccionado de entre el grupo consistente en trifluorometilo, ciano y ciclopropilo;

con la condición de que, cuando R^1 es hidrógeno, cloro, ciano o trifluorometilo, entonces R^2 es alcoxi (C_1 - C_3) sustituido con de 1 a 5 grupos flúor;

o sus sales farmacéuticamente aceptables.

20 2. Compuesto según la reivindicación 1, en el que R^2 es seleccionado de entre el grupo consistente en hidrógeno, flúor, cloro, ciano, trifluorometilo, 1,1-difluoroetilo, trifluorometoxi, difluorometoxi y 1,1,2,2-tetrafluoroetoxi, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

3. Compuesto según la reivindicación 2, en el que R^2 es seleccionado de entre el grupo consistente en trifluorometilo, 1,1-difluoroetilo, difluorometoxi, trifluorometoxi y 1,1,2,2-tetrafluoroetoxi y R^3 es hidrógeno, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

25 4. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que R^1 es difluorometoxi o trifluorometoxi, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

5. Compuesto según la reivindicación 1, en el que R^2 es alcoxi (C_1 - C_3) sustituido con de 1 a 5 grupos flúor, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

30 6. Compuesto según la reivindicación 5, en el que R^3 es hidrógeno, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

7. Compuesto según la reivindicación 1, que es (3R,5R)-3-[1-metil-1-(2-trifluorometil-pirimidin-4-il)-etilamino]-5-(3-trifluorometoxi-fenil)-1-(4-trifluorometil-fenil)-pirrolidin-2-ona, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

8. Compuesto según la reivindicación 1, que es (3R,5R)-3-[1-(2-ciclopropil-pirimidin-4-il)-1-metil-etilamino]-5-(3-trifluorometoxi-fenil) -1-(4-trifluorometil-fenil)-pirrolidin-2-ona, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

35 9. Compuesto según la reivindicación 1, que es (3R,5R)-3-[1-metil-1-(2-trifluorometil-pirimidin-4-il)-etilamino]-5-(3-fluoro-fenil)-1-(4-trifluorometoxifenil)-pirrolidin-2-ona, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

10. Compuesto según la reivindicación 1, que es (3R,5R)-3-[1-metil-1-(6-trifluorometil-piridin-2-il)-etilamino]-5-fenil-1-(4-trifluorometoxi-fenil)-pirrolidin-2-ona, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

40 11. Composición farmacéutica que comprende un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

12. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en terapia.

5 13. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de un trastorno seleccionado de entre: un trastorno alimentario asociado con la ingesta excesiva de alimentos, obesidad, esquizofrenia, deterioro cognitivo asociado con la esquizofrenia, síntomas negativos asociados con la esquizofrenia, abuso de sustancias, dependencia del alcohol y aumento de peso asociado con un tratamiento con un antipsicótico, o en un tratamiento para dejar de fumar.

10 14. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en una combinación simultánea, separada o secuencial con un agente antipsicótico en el tratamiento de un trastorno seleccionado de entre: esquizofrenia, deterioro cognitivo asociado con la esquizofrenia, síntomas negativos asociados con la esquizofrenia y aumento de peso asociado con un tratamiento con un antipsicótico.