(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 396 612**

(51) Int. Cl.:

C07D 209/94	(2006.01)
C07D 401/06	(2006.01)
C07D 403/06	(2006.01)
A61K 31/403	(2006.01)
A61K 31/4439	(2006.01)
A61P 5/26	(2006.01)
A61P 19/10	(2006.01)
A61P 21/00	(2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.05.2009** **E 09747531 (3)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **31.10.2012** **EP 2297100**

(54) Título: **Tetrahidrociclopenta[b]indoles como moduladores del receptor de andrógenos**

(30) Prioridad:

16.05.2008 US 53722

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
22.02.2013

(73) Titular/es:

ELI LILLY & COMPANY (100.0%)
Lilly Corporate Center
Indianapolis, IN 46285, US

(72) Inventor/es:

JADHAV, PRABHAKAR, KONDAJI;
KRISHNAN, VENKATESH y
KIM, EUIBONG, JEMES

(74) Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 396 612 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

Tetrahidrociclopenta[b]indoles como moduladores del receptor de andrógenos

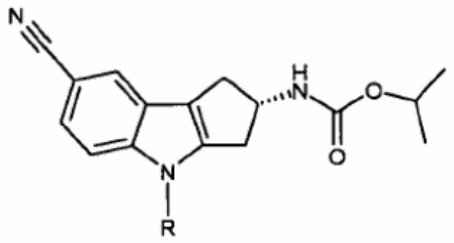
Los andrógenos esteroideos endógenos (por ejemplo, testosterona y 5α-dihidrotestosterona (DHT)) ejercen profundas influencias sobre una multitud de funciones fisiológicas. Clínicamente, se ha utilizado la terapia con andrógenos en el tratamiento del hipogonadismo en el hombre. Significativamente, se ha demostrado también que la terapia de sustitución de andrógenos en el hombre afectado de hipogonadismo disminuye la resorción del hueso y aumenta la masa ósea. Otras indicaciones para las cuales se han utilizado clínicamente los andrógenos incluyen la osteoporosis, y las enfermedades que causan pérdida muscular. Además, se ha utilizado la terapia de sustitución de andrógenos recientemente en el envejecimiento del hombre y para la regulación de la fertilidad en varones. En mujeres, la terapia de andrógenos se ha utilizado clínicamente para el tratamiento de la disfunción sexual o la líbido disminuida.

Sin embargo, la terapia con andrógenos tiene limitaciones. Por ejemplo, los efectos secundarios no deseados de la terapia con andrógenos esteroideos incluyen la estimulación del crecimiento de la próstata y las vesículas seminales. Además, la estimulación de tumores de la próstata y las elevaciones en los antígenos específicos de la próstata (PSA) (una indicación de un aumento del riesgo del cáncer de próstata) se han asociado con el uso de andrógenos. Además, se ha encontrado que las preparaciones de andrógenos esteroideos sufren de una rápida degradación en el hígado que conduce a una mala biodisponibilidad oral y una corta duración de la actividad tras la administración parenteral, variaciones en los niveles en plasma, hepatotoxicidad, o reactividad cruzada con otros receptores de hormonas esteroideas (por ejemplo, el receptor glucocorticoide (GR), el receptor mineralcorticoide (MR), y el receptor de la progesterona (PR)). Además, en mujeres, el uso de andrógenos esteroideos puede conducir al hirsutismo o a la virilización.

De esta manera, sigue existiendo necesidad en la técnica de alternativas a la terapia de andrógenos esteroideos. Preferiblemente, dichas alternativas poseen las propiedades farmacológicas beneficiosas de los andrógenos esteroideos, pero con una probabilidad o incidencia reducidas de las limitaciones típicas asociadas con la terapia de andrógenos esteroideos. Es por tanto un objeto de la presente invención proporcionar ligandos de AR no esteroideos que posean actividad agonista de andrógenos. Más particularmente, es un objeto proporcionar agonistas de andrógenos no esteroideos que se unan al AR con mayor afinidad con respecto a los otros receptores de hormonas esteroideas. Incluso de forma más particular, es un objeto proporcionar moduladores selectivos del receptor de andrógenos (SARM) que presenten actividad agonista de andrógenos en el músculo o el hueso, pero solo actividad agonista parcial, antagonista parcial o antagonista en tejidos androgénicos tales como la próstata o la vesícula seminal.

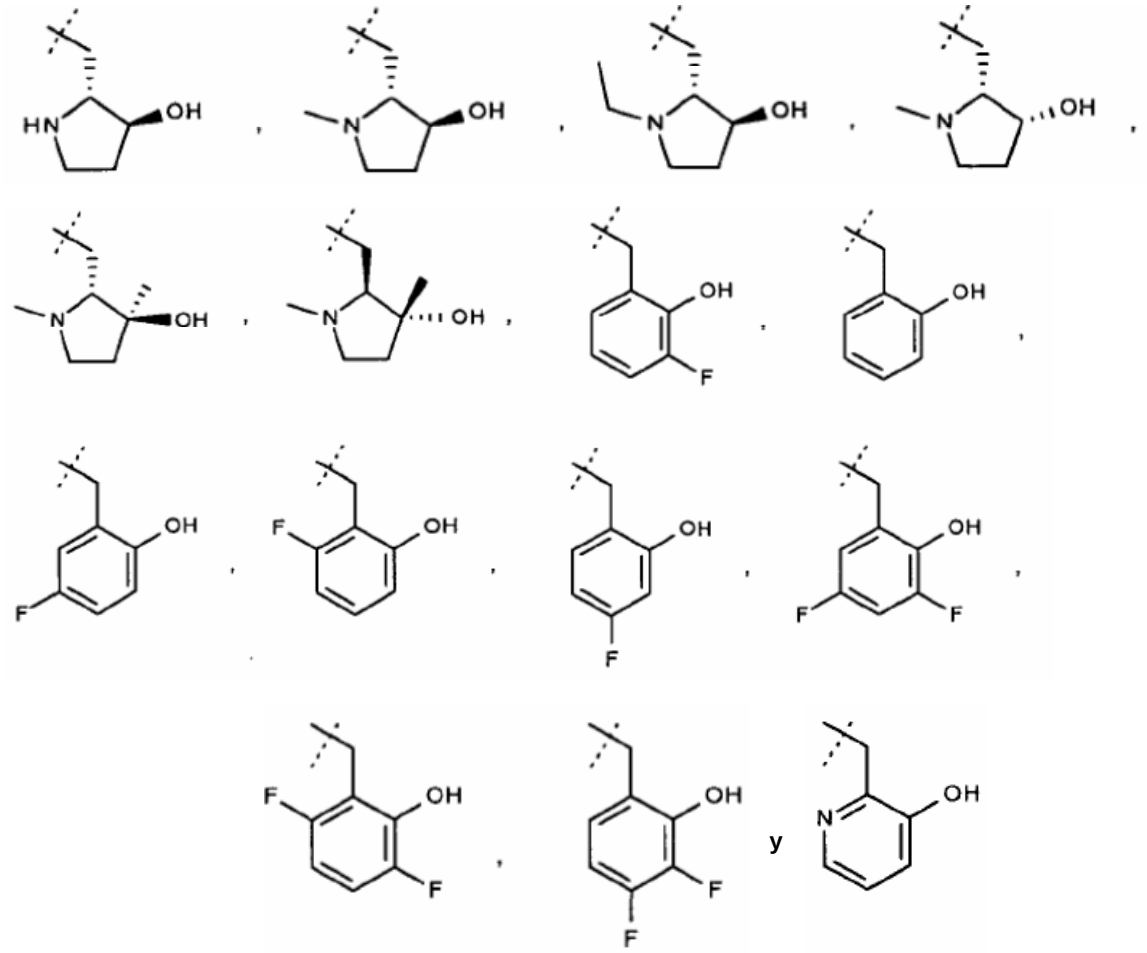
Lo sucesivo proporciona ejemplos del estado actual de la técnica: Cadilla y col., Cuirr. Top. Med Chem (2006); 6 (3): 245-270, proporciona una revisión de los moduladores del receptor de andrógenos; Segal y col., Expert Opin. Investig. Drugs (2006); 15 (4); 377-387, proporciona una revisión de los moduladores del receptor de andrógenos; la solicitud de patente internacional PCT/US07/83745 de titularidad compartida con la presente da a conocer compuestos de tetrahidrociclopenta[b]indoles como moduladores del receptor de andrógenos; y la solicitud de patente internacional publicada WO 2007/002181 da a conocer tetrahidrocarbazoles como moduladores del receptor de andrógenos.

La presente invención se dirige a algunos compuestos de tetrahidrociclopenta[b]indoles, tal como se definen mediante la siguiente Fórmula (I), que tienen perfiles particulares de actividad en pruebas *in vitro* e *in vivo* que sugieren que son útiles en el tratamiento de trastornos sensibles a la terapia con andrógenos esteroideos. De acuerdo con esto, la presente invención proporciona un compuesto de Fórmula (I):



Fórmula (I)

en la que,
R representa un sustituyente seleccionado entre el grupo que consiste en



o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

En otra realización, la presente invención proporciona un compuesto de Fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, para uso en el tratamiento o la prevención del hipogonadismo, reducción de la masa o la densidad ósea, osteoporosis, osteopenia, reducción de la masa o la fuerza muscular, disfunción sexual en hombres o mujeres, disfunción eréctil, o líbido reducida. Más particularmente, la invención proporciona un compuesto de Fórmula (1), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, para uso en el tratamiento o la prevención de la reducción de la masa o la densidad ósea, osteoporosis, osteopenia, reducción de la masa o la fuerza muscular, o disfunción eréctil. Incluso de forma más particular, la presente invención proporciona un compuesto de Fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, para uso en el tratamiento o la prevención de la reducción de la masa o la densidad ósea, osteoporosis, osteopenia, reducción de la masa o la fuerza muscular inducida por inmovilización, falta de uso o trauma, o disfunción eréctil. Además, la presente invención proporciona un compuesto de Fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, para uso en terapia.

En otra realización, la presente invención proporciona el uso de un compuesto de Fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables para la fabricación de un medicamento para el tratamiento o la prevención del hipogonadismo, reducción de la masa o la densidad ósea, osteoporosis, osteopenia, reducción de la masa o la fuerza muscular, disfunción sexual en hombres o mujeres, disfunción eréctil, o líbido reducida. Más particularmente, la presente invención proporciona el uso de un compuesto de Fórmula (I) para la fabricación de un medicamento para el tratamiento o la prevención de la reducción de la masa o la densidad ósea, osteoporosis, osteopenia, reducción de la masa o la fuerza muscular, o disfunción eréctil. Incluso más particularmente, la presente invención proporciona el uso de un compuesto de Fórmula (I) para la fabricación de un medicamento para el tratamiento o la prevención de la reducción de la masa o la densidad ósea, osteoporosis, osteopenia, reducción de la masa o la fuerza muscular inducida por inmovilización, falta de uso o trauma, o disfunción eréctil.

Además, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de Fórmula (I) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en combinación con uno o más vehículos, diluyentes, o excipientes farmacéuticamente aceptables. Más particularmente, la presente invención proporciona una composición farmacéutica para el tratamiento de la reducción de la masa o la densidad ósea, osteoporosis, osteopenia, reducción de la masa o la fuerza muscular, o disfunción eréctil que comprende un compuesto de Fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en combinación con uno o más vehículos, diluyentes

o excipientes farmacéuticamente aceptables. Incluso de forma más particular, la presente invención proporciona una composición farmacéutica para el tratamiento de la reducción de la masa o la densidad ósea, osteoporosis, osteopenia, reducción de la masa o la fuerza muscular inducida por inmovilización, falta de uso o trauma, o disfunción eréctil.

La presente invención abarca también novedosos intermedios y procedimientos útiles para la síntesis de un compuesto de Fórmula (I).

La presente invención se refiere también a las sales farmacéuticamente aceptables del compuesto de Fórmula (I). Los ejemplos de sales y procedimientos farmacéuticamente aceptables para su preparación están también comprendidos dentro del conocimiento de los expertos en la técnica. Además, la presente invención se refiere también a los solvatos del compuesto de Fórmula (I) o las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de Fórmula (I). Como tal, cuando se usa en el presente documento el término “Fórmula (I)”, o cualquier compuesto particular de Fórmula (I) incluye en su significado cualquier solvato del compuesto.

Los compuestos de Fórmula (I) pueden tener uno o más centros quirales y, por tanto, pueden existir en configuraciones estereoisoméricas particulares. Los términos “R” y “S” se usan en el presente documento como se usan comúnmente en química orgánica para denotar configuraciones específicas de un centro quiral. Los términos “(±)” se refieren a una configuración de un centro quiral que comprende un racemato. Una lista parcial de prioridades y una discusión de la estereoquímica están contenidas en "Nomenclature of Organic Compounds: Principles and Practice", (J. H. Fletcher, y col., eds., 1974). Análisis de rayos X y correlación con el tiempo de retención de la HPLC quiral.

Un experto en la técnica puede preparar los estereoisómeros y enantiómeros específicos de los compuestos de Fórmula I utilizando técnicas y procedimientos bien conocidos, tales como los dados a conocer por Eliel y Wilen, "Stereochemistry of Organic Compounds", John Wiley y Sons, Inc., 1994, Capítulo 7; Separation of Stereoisomers, Resolution, Racemization; y por Collet y Wilen, "Enantiomers, Racemates, and Resolutions", John Wiley & Sons, Inc., 1981. Por ejemplo, se pueden preparar estereoisómeros y enantiómeros específicos mediante síntesis estereoespecífica utilizando materiales de partida enantioméricamente y geométricamente puros, o enantioméricamente o geométricamente enriquecidos. Además, los estereoisómeros y enantiómeros específicos se pueden resolver y recuperar mediante técnicas tales como la cromatografía sobre fases estacionarias quirales, resolución enzimática, recristalización fraccionada de sales de adición, así como las técnicas proporcionadas en los esquemas y ejemplos en el presente documento.

La designación “ “ se refiere a un enlace que sobresale hacia delante del plano de la página.

La designación “ “ se refiere a un enlace que sobresale hacia atrás del plano de la página.

La designación “ “ se refiere a un enlace que existe como una mezcla de enlaces que sobresalen hacia delante y hacia atrás del plano de la página.

Tal como se usa en el presente documento, el término “paciente” se refiere a un mamífero humano o no humano tal como un perro, gato, vaca, mono, caballo, u oveja. Más particularmente, el término “paciente” se refiere a un ser humano. El término “que trata” (o “tratar” o “tratamiento” tal como se usa en el presente documento incluye prohibir, restringir, ralentizar, detener, o invertir la progresión o la gravedad de un síntoma o trastorno existente. El término “evitar” (o “prevenir” o “prevención”) tal como se usa en el presente documento se refiere a prohibir, restringir, o inhibir la incidencia o la ocurrencia de un síntoma o trastorno. Tal como apreciará un experto en la técnica, los trastornos fisiológicos pueden presentarse como una dolencia “crónica”, o como un episodio “agudo”. De esta manera, el tratamiento de los trastornos contempla episodios agudos y dolencias crónicas. En un episodio agudo, el compuesto se administra al inicio de los síntomas y se interrumpe cuando los síntomas desaparecen, mientras que una dolencia crónica se trata a lo largo del curso de la enfermedad.

Los compuestos de la presente invención se pueden formular como parte de una composición farmacéutica. Como tal, una composición farmacéutica que comprende un compuesto de Fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en combinación con un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable es una importante realización de la invención. Se conocen bien en la técnica ejemplos de composiciones y procedimientos farmacéuticos para su preparación. Un compuesto de Fórmula (I), o una composición que comprende un compuesto de Fórmula (I) se puede administrar mediante cualquier ruta que convierta el compuesto en biodisponible, incluyendo las rutas orales y parenterales.

Tal como se usa en el presente documento, el término “cantidad eficaz” se refiere a la cantidad o a la dosis de un compuesto de Fórmula (I) que tras administración de una dosis única o múltiple al paciente, proporciona el efecto deseado en el paciente en diagnóstico o tratamiento. El especialista a cargo del diagnóstico puede determinar fácilmente una cantidad eficaz, como experto en la técnica, teniendo en cuenta numerosos factores tales como la especie de mamífero; su tamaño, edad, y estado de salud general; la enfermedad específica implicada; el grado de gravedad de la enfermedad; la respuesta del paciente individual; el compuesto particular administrado; el modo de administración; las características de biodisponibilidad de la preparación administrada; el régimen de la dosis

seleccionado; y el uso y las medicaciones simultáneas.

Los compuestos y las composiciones de la presente invención se pueden administrar, o utilizarse en un medicamento tanto solo como en combinación con agentes terapéuticos convencionales utilizados para un trastorno particular. Cuando los compuestos o composiciones de la presente invención se usan como parte de una combinación, el compuesto o la composición que comprende la Fórmula (I) se puede administrar tanto por separado, o como parte de una formulación que comprende el agente terapéutico con el cual se va a combinar.

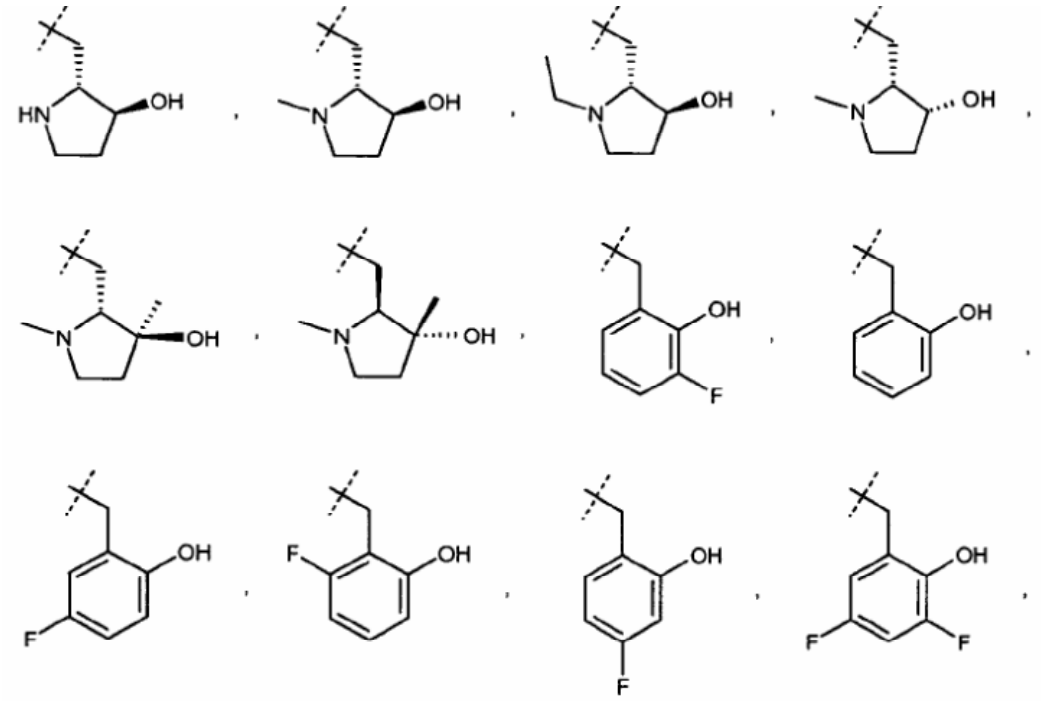
En particular, los agentes terapéuticos convencionales para el tratamiento de la disfunción eréctil se pueden combinar ventajosamente con los compuestos de Fórmula (I), o las composiciones que comprenden un compuesto de Fórmula (I). Los agentes convencionales para el tratamiento de la disfunción eréctil incluyen los inhibidores de la fosfodiesterasa de tipo 5 (PDE5) de tipo tadalafilo (Cialis™), citrato de sildenafilo (Viagra™), y clorhidrato de vardenafilo (Levitra™). De esta manera, la presente invención proporciona también un compuesto de Fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, para uso en el tratamiento o la prevención de la disfunción eréctil en combinación con un agente seleccionado entre el grupo que consiste en tadalafilo, citrato de sildenafilo, y clorhidrato de vardenafilo. Más particularmente, la presente invención proporciona un compuesto de Fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, para uso en el tratamiento o la prevención de la disfunción eréctil en combinación con un agente seleccionado entre el grupo que consiste en Cialis™, Viagra™ y Levitra™.

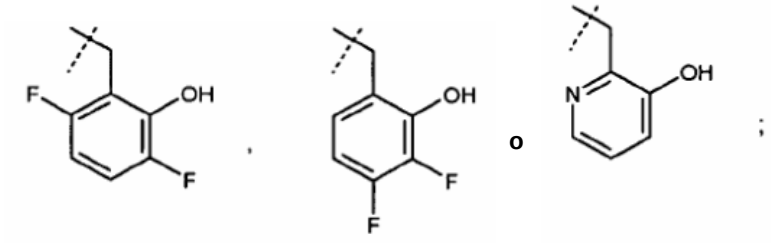
La presente invención proporciona además una formulación para terapia de combinación que comprende: (a) un compuesto de Fórmula (I); (b) uno o más agentes simultáneos que son convencionales para el tratamiento de la disfunción eréctil seleccionados entre el grupo que consiste en tadalafilo, citrato de sildenafilo y clorhidrato de vardenafilo; y opcionalmente (c) un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable. Más particularmente, la presente invención proporciona una formulación de terapia de combinación que comprende: (a) un compuesto de Fórmula (I), (b) uno o más agentes simultáneos que son convencionales para el tratamiento de la disfunción eréctil seleccionados entre el grupo que consiste en Cialis™, Viagra™ y Levitra™, y opcionalmente (c) un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

Aspectos particulares de la invención

La siguiente lista muestra algunas agrupaciones de sustituyentes particulares y variables particulares de los compuestos de Fórmula (I). Debe entenderse que los compuestos de Fórmula (I) que tienen dichos sustituyentes o variables particulares, así como los procedimientos y usos que emplean dichos compuestos, representan aspectos particulares de la presente invención.

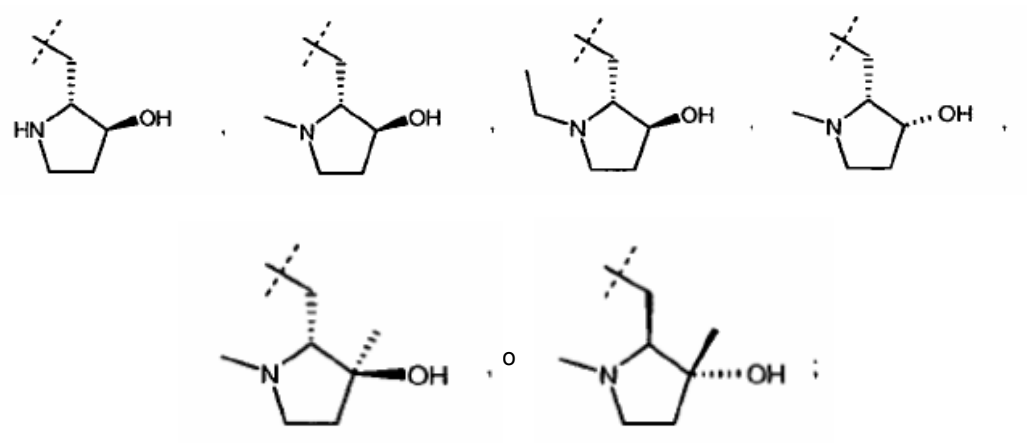
(a) R representa





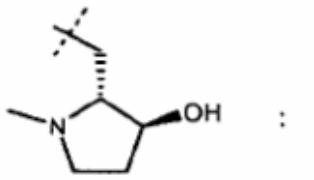
o

(b) R representa



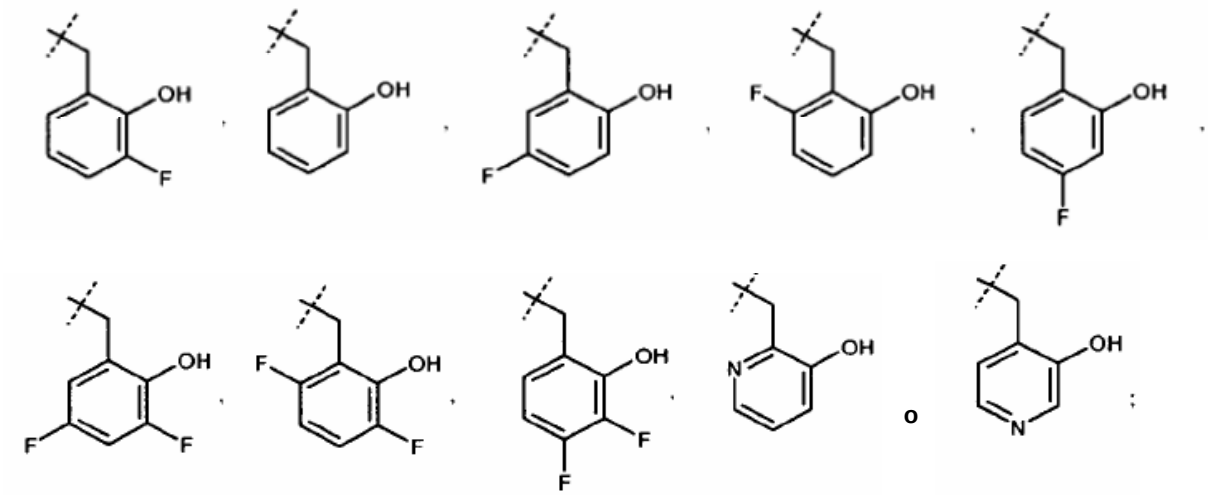
o

(c) R representa



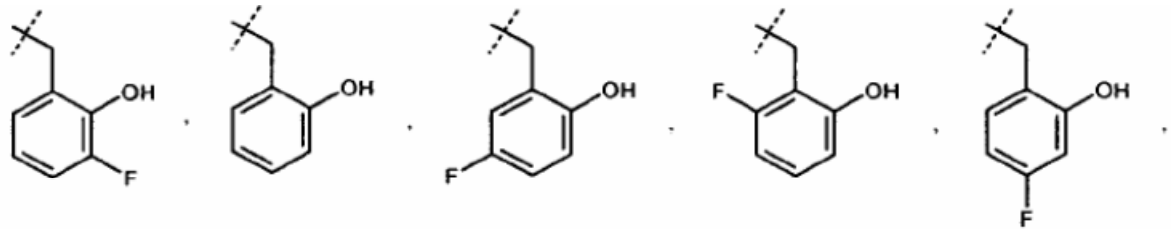
o

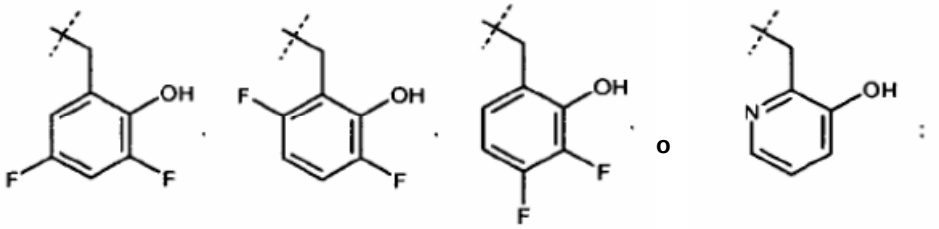
(d) R representa



o

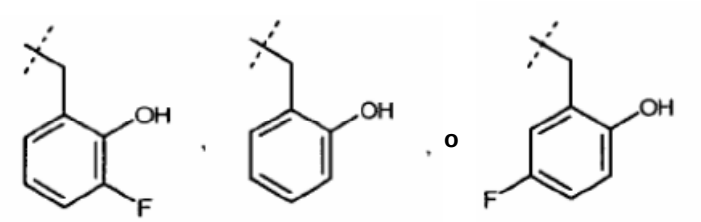
(e) R representa





o

(f) R representa

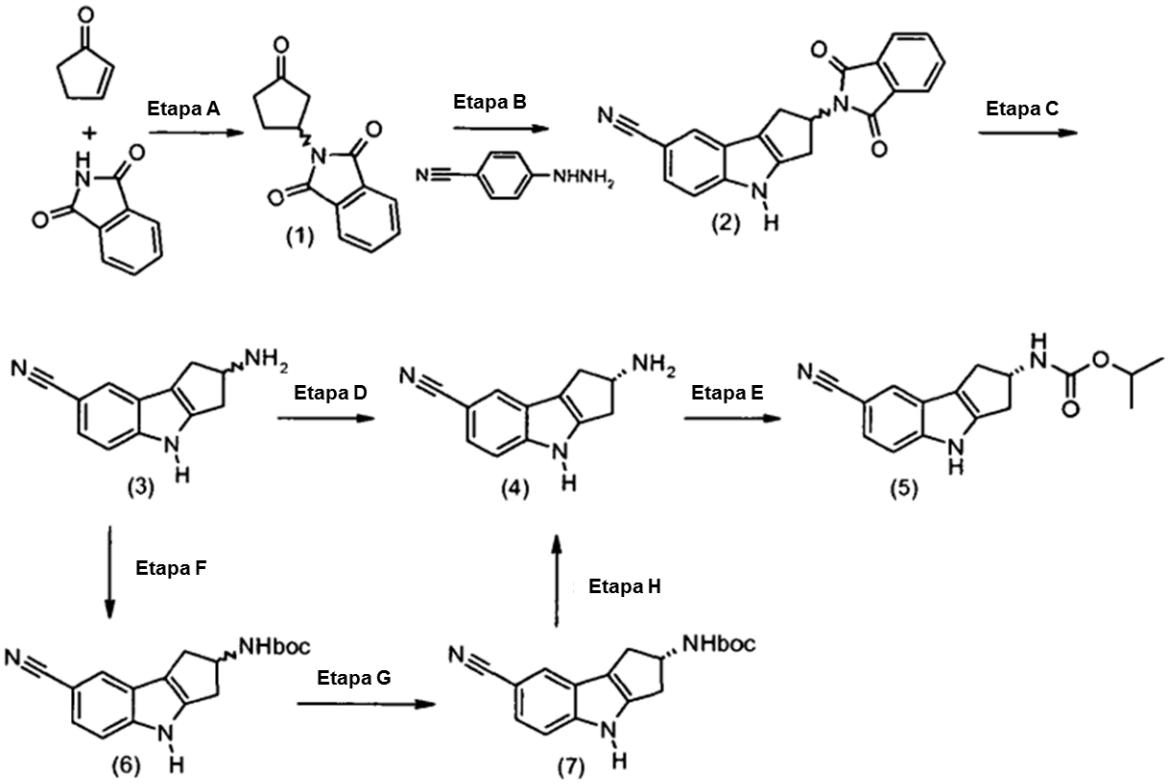


Además, una realización más particular de la presente invención se proporciona por los compuestos de Fórmula (I) ilustrados en el presente documento, e incluso más concretamente los compuestos éster isopropílico del ácido [(S)-7-ciano-4-((2R,3S)-3-hidroxi-1-metil-pirrolidin-2-ilmetil)-1,2,3,4-tetrahidro-ciclopenta[b]indol-2-il]-carbámico, éster isopropílico del ácido [(S)-7-ciano-4-(3-fluoro-2-hidroxibencil)-1,2,3,4-tetrahidrociclopenta[b]indol-2-il]-carbámico, éster isopropílico del ácido [(S)-7-ciano-4-(2-hidroxi-bencil)-1,2,3,4-tetrahidro ciclopenta[b]indol-2-il]-carbámico, y éster isopropílico del ácido [(S)-7-ciano-4-(5-fluoro-2-hidroxibencil)-1,2,3,4-tetrahidro-ciclopenta[b]indol-2-il] carbámico.

Los compuestos de fórmula (I) se pueden preparar mediante una variedad de procedimientos conocidos en la técnica así como mediante los descritos en los siguientes Esquemas, Preparaciones, y Ejemplos. Sin embargo, no se pretende que la siguiente descripción sea limitante en ninguna manera del alcance de la presente invención. Por ejemplo, se pueden combinar de diferentes maneras las etapas sintéticas específicas de cada una de las rutas descritas, o junto con las etapas procedentes de diferentes esquemas, para preparar los compuestos adicionales de Fórmula (I).

Los sustituyentes, a no ser que se indique otra cosa, son como se han definido anteriormente. Los reactivos y materiales de partida están fácilmente disponibles para el experto en la materia o se pueden preparar mediante procedimientos que se seleccionan a partir de técnicas normalizadas de la química orgánica y heterocíclica, técnicas que son análogas a la síntesis de los compuestos estructuralmente similares conocidos, y los procedimientos descritos en los siguientes Ejemplos, incluyendo cualquier procedimiento novedoso. Tal como se usan en el presente documento, los siguientes términos tienen los significados indicados: “MeOH” se refiere a metanol; “EtOH” se refiere a etanol; “i-PrOH” se refiere a isopropanol; “EtOAc” se refiere a acetato de etilo; “DMF” se refiere a dimetilformamida; “DMSO” se refiere a metil sulfóxido; “NMP”·se refiere a 1-metil-2-pirrolidona; “TFA” se refiere a ácido trifluoroacético; “THF” se refiere a tetrahidrofurano; “DEAD” se refiere a azodicarboxilato de dietilo; “DIAD” se refiere a diazodicarboxilato de diisopropilo; “NBS” se refiere a N-bromosuccinimida, “T-boc” o “boc” se refiere a *terc*-butoxicarbonilo; “TBDMS” se refiere a t-butildimetilsililo; y “Ptg” se refiere a grupo protector.

Esquema 1



Se puede llevar a cabo la formación de un intermedio de fórmula (5) de acuerdo con las reacciones tal como se representa gráficamente en el Esquema 1.

En la Etapa A del Esquema 1, se hace reaccionar ciclopentanona con ftalimida en una adición de Michael para dar la (*R,S*)-2-(3-oxociclopentil)-isoindol-1,3-diona (1). La reacción se lleva a cabo en metanol / Na_2CO_3 2 N en una relación de 10/1 en volumen, preferiblemente a temperatura ambiente utilizando condiciones similares a las descritas por O. Nowitzki, y col. en Tetrahedron 1996, 52, 11799-11810. Se aisló el producto mediante la adición de agua y (1) se obtuvo como un sólido de color blanco.

En la Etapa B, se hace reaccionar la (*R,S*)-2-(3-oxo-ciclopentil)-isoindol-1,3-diona (1) con 4-ciano-fenilhidrazina en una síntesis de indoles de Fischer típica para dar el tetrahidrociclopenta[b]indol de fórmula (2). El técnico experto reconocerá que existe una variedad de condiciones ácidas para efectuar una síntesis de indoles de Fischer, que incluyen protones y ácidos de Lewis. Las condiciones preferidas utilizan una mezcla de ácido acético glacial con HCl 4 N en dioxano, a una temperatura de aproximadamente 50º C para la temperatura de reflujo del solvente, durante aproximadamente 4 a 24 horas. El producto se aisló mediante la adición de agua seguido por la filtración del sólido resultante. El sólido se sonicó en metanol para dar un material de suficiente pureza. Alternativamente, se efectuó la reacción utilizando un ácido de Lewis, tal como cloruro de cinc, en una cantidad de aproximadamente 2 a 4 equivalentes. Otras condiciones preferidas para la Etapa B utilizan metanol a la temperatura de reflujo durante aproximadamente 4 a 24 horas. Se aisló el producto y se puede purificar mediante filtración de la mezcla de reacción, seguido por cromatografía en gel de sílice del filtrado.

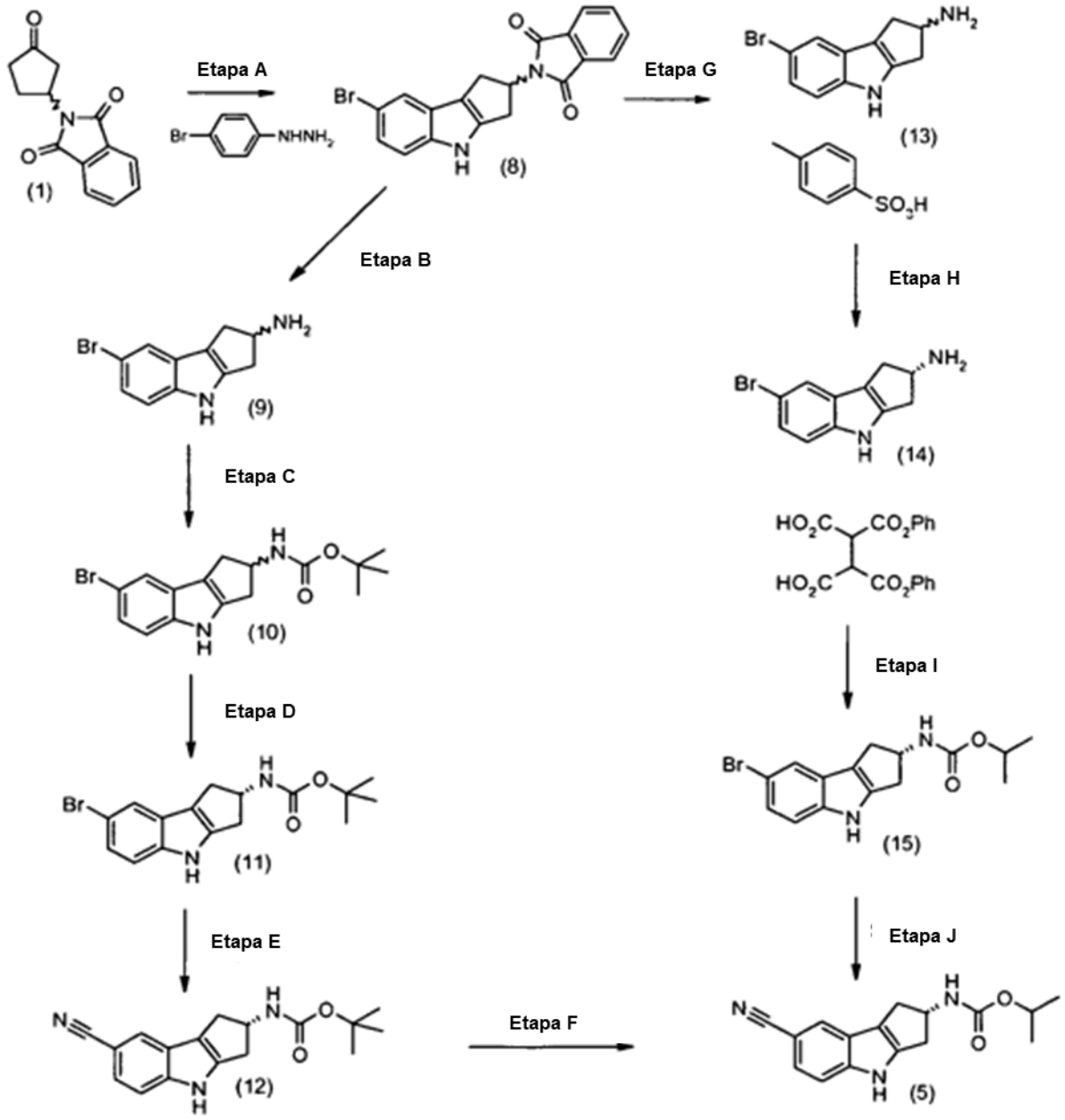
En la Etapa C del Esquema 1, el grupo ftalimida del tetrahidrociclopenta[b]indol de fórmula (2) se escindió con hidrazina o hidrato de hidrazina para proporcionar un aminotetrahidrociclopenta[b]indol de fórmula (3) utilizando las condiciones que se describen por M. Alajarín, y col (Eur. J. Org. Chem. 2002, 4222-4227). La reacción se desarrolla en una mezcla solvente de tetrahidrofurano/etanol en una relación de aproximadamente 5,5/1 en volumen a una temperatura de 0 a 50º C, preferiblemente a aproximadamente la temperatura ambiente, durante 4 a 72 horas. La ftalhidrazida resultante se elimina mediante filtración y se aísla el producto por concentración del filtrado. Puede purificarse mediante cromatografía utilizando técnicas conocidas en la materia.

En la Etapa D del Esquema 1, el aminotetrahidrociclopenta[b]indol racémico de fórmula (3) se resolvió en el (*S*)-aminotetrahidrociclopenta[b]indol quiral de fórmula (4). La amina se disolvió en un solvente adecuado, tal como etanol y se recristalizó como la sal del ácido D-piroglutámico. Tras el aislamiento de la sal, se obtuvo la base libre de fórmula (4) mediante disolución en agua y ajuste del pH a 9 utilizando una disolución acuosa concentrada de amonio. El sólido resultante se filtró para proporcionar el (*S*)-2-amino-1,2,3,4-tetrahidrociclopenta[b]indol-7-carbonitrilo (4) con rotación específica: $[a]_D^{25}$ -68.3° (Me-OH).

En la etapa E, la amina de fórmula (4) se aciló con cloroformiato de isopropilo para dar un carbamato de fórmula (5), utilizando condiciones bien conocidas por los expertos en la materia. La amina se combinó con un exceso de base de amina orgánica tal como trietilamina o diisopropiletilamina en un solvente inerte tal como tetrahidrofurano, tolueno, dicloroetano o diclorometano, N-metilpirrolidinona, o N,N-dimetilformamida, o una de sus mezclas. Las condiciones preferidas utilizan isopropiletilamina en diclorometano en presencia de cloroformiato de isopropilo a una temperatura de aproximadamente 0 a 40º C durante 1 a 72 horas. Se aisló el producto mediante la adición de agua y dietil éter, seguido por agitación y recogida del sólido resultante. Si el producto es suficientemente soluble en un solvente orgánico adecuado se puede aislar mediante técnicas extractivas.

Alternativamente, tal como se muestra en la Etapa F, la amina racémica de fórmula (3) se protege como la amina protegida con t-butoxicarbonilo (boc) de fórmula (6) utilizando condiciones comunes en la técnica. En la Etapa G, la mezcla racémica se resuelve a continuación utilizando cromatografía quiral para obtener el enantiómero (*S*) de la fórmula (7). A continuación se elimina el grupo boc utilizando condiciones ácidas típicas con HCl o TFA para obtener la amina quiral de fórmula (4).

Esquema 2



En el Esquema 2 se representa gráficamente la síntesis alternativa del intermedio de fórmula (5).

En la Etapa A del Esquema 2, se hace reaccionar la (*R,S*)-2-(3-oxo-ciclopentil)-isoindol-1,3-diona (1) con clorhidrato de 4-bromofenilhidrazina en una síntesis de indoles de Fischer típica. Las condiciones preferidas utilizan ácido acético glacial a aproximadamente 50 a 80º C durante 2 a 24 h.

En la Etapa B, el grupo ftalimida del tetrahidrociclopenta[b]indol de fórmula (8) se escinde con hidrazina o hidrato de hidrazina para proporcionar un aminotetrahidrociclopenta[b]indol de fórmula (9). Las condiciones preferidas utilizan tetrahidrofurano/etanol en una mezcla de aproximadamente 20/1 en volumen a una temperatura de aproximadamente 40 a 70º C, durante 1 a 12 horas, La ftalhidrazida resultante se elimina mediante filtración y se aísla el producto mediante concentración del filtrado.

En la Etapa C del Esquema 2, la amina de fórmula (9) se protege con un grupo *t*-boc para dar la amina protegida de fórmula (10). Las condiciones preferidas utilizan dicarbonato de di-*terc*-butilo en un solvente inerte tal como THF o dioxano, en presencia de una base inorgánica tal como $NaHCO_3$. En la Etapa D, el material t-boc racémico de fórmula (10) se resuelve utilizando HPLC quiral para obtener el enantiómero (*S*) de fórmula (11).

En la Etapa E, el (S) bromocarbamato de fórmula (11) se convierte al nitrilo de fórmula (5). La reacción se hace avanzar en un solvente inerte, tal como N,N'-dimetilacetamida en presencia de una mezcla de acetato de cinc o formiato de cinc, cianuro de cinc, y polvo de cinc. Se utiliza un catalizador de paladio, tal como cloruro de 1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno) paladio (II). La reacción se calienta a aproximadamente 80 a 120º C durante aproximadamente 2 a 24 h.

En la Etapa F, el grupo boc se elimina utilizando condiciones ácidas típicas tales como HCl/dioxano o TFA para obtener la amina quiral de fórmula (4) (véase el Esquema 1) que a continuación se acila, tal como se describe en la Etapa E del Esquema 1, con cloroformiato de isopropilo para dar un carbamato de fórmula (5).

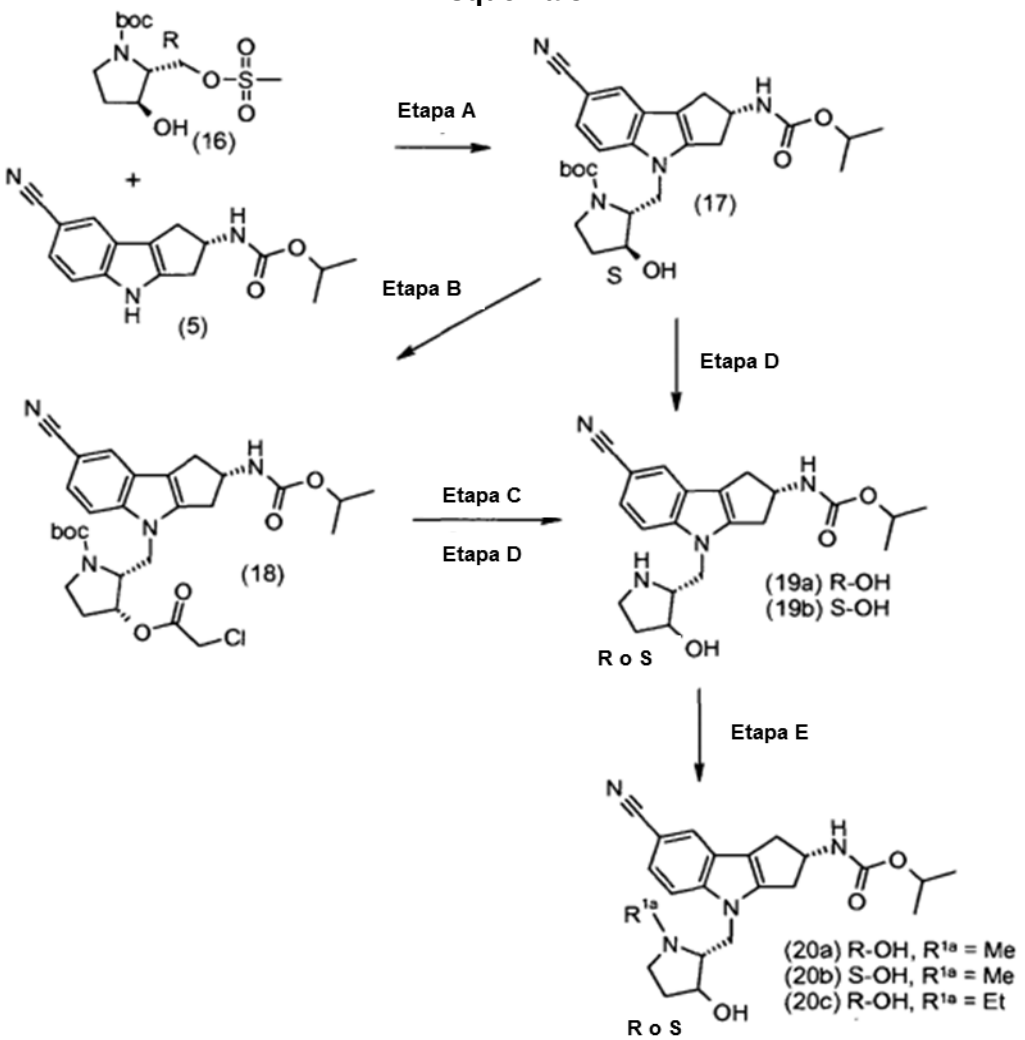
Alternativamente, en la Etapa G del Esquema 2, el grupo ftalimida del tetrahidrociclopenta[b]indol de fórmula (8) se escinde con la hidrazina o hidrato de hidrazina para proporcionar un aminotetrahidrociclopenta[b]indol de fórmula (9) tal como se ha descrito anteriormente en la Etapa B. Posteriormente, la amina libre resultante se convierte a la sal del ácido p-toluensulfónico en etanol.

En la Etapa H, la sal de tosilato del aminotetrahidrociclopenta[b]indol racémico de fórmula (13) se libera y la amina libre resultante se resuelve utilizando ácido dibencil-D-tartárico para obtener la sal del ácido tartárico del (*S*)-aminotetrahidrociclopenta[b]indol de fórmula (14). La formación de la sal se lleva preferiblemente a cambio en una mezcla solvente de etanol y agua con reflujo durante aproximadamente 1 a 6 horas, seguido por enfriamiento para obtener el enantiómero deseado.

En la Etapa I, la sal de fórmula (14) se neutraliza hasta la base libre y a continuación se acila para obtener un carbamato de fórmula (15). La sal se neutraliza con una base inorgánica, tal como una solución de hidróxido de sodio. Se obtiene la base libre mediante extracción seguida por acilación con cloroformiato de isopropilo en presencia de una amina orgánica tal como diisopropiletilamina en un solvente o mezcla solvente inerte de tetrahidrofurano y metil t-butil éter.

En la Etapa J del Esquema 2, el bromocarbamato de fórmula (15) se convierte en el nitrilo de fórmula (5) tal como se ha descrito anteriormente para la Etapa E.

Esquema 3



Se puede llevar a cabo la formación de compuestos de la invención de fórmula (20a, b, o c) de acuerdo con las reacciones tal como se representa gráficamente en el esquema 3.

En la Etapa A del Esquema 3, el ciano tetrahidrociclopenta[b]indol de fórmula (5) se alquiló con el mesilato de alquilo de fórmula (16) para proporcionar el tetrahidrociclopenta[b]indol alquilado de fórmula (17). La reacción se desarrolla en un solvente inerte, tal como DMF, en presencia de una base inorgánica, tal como carbonato de cesio, con adición de yoduro de potasio. La reacción se desarrolla a una temperatura de aproximadamente 50 a 100º C durante aproximadamente 8 a 72 h.

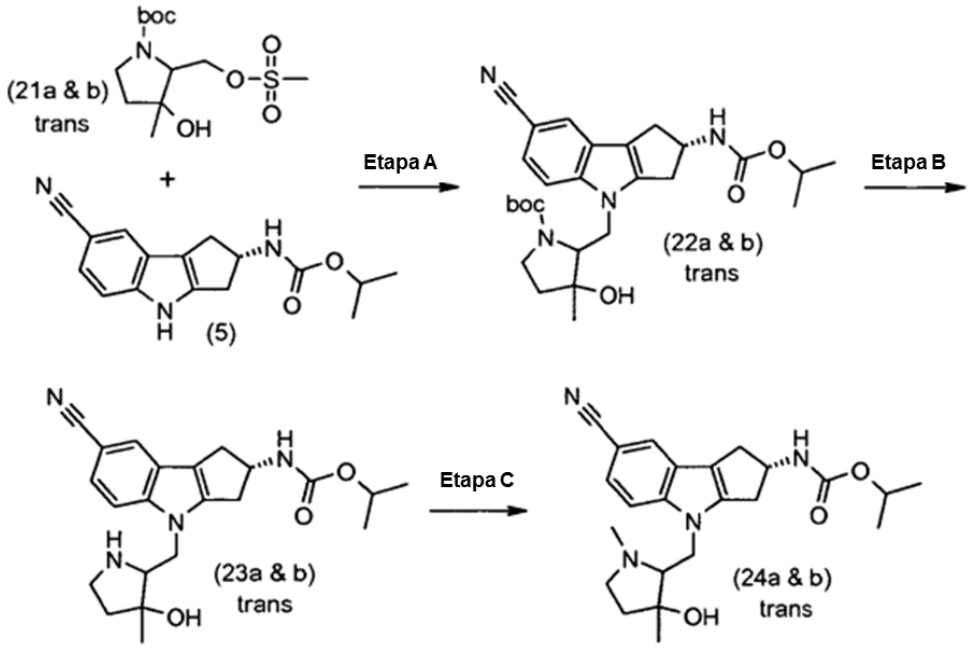
En la Etapa B del esquema 3, la quiralidad del grupo hidroxilo de la pirrolidina de fórmula (17) se convirtió de (3*S*) a (3R) La conversión quiral se efectuó utilizando una reacción de Mitsunobu para dar la cloroacetoxipirrolidina de fórmula (18). El técnico experto reconocerá que existen diversas condiciones de Mitsunobu empleadas en la técnica. Por ejemplo, el alcohol de fórmula (179 se disolvió en un solvente anhidro adecuado de tipo THF, CH_2Cl_2, o tolueno y se trató con una trialquil o triarilfosfina tal como Me_3P, Bu_3P, o Ph_3P y un dialquilazo-dicarboxilato, tal como DEAD o DIAD.

En la Etapa C, la 3*R*-cloroacetoxipirrolidina de fórmula (18) se hidrolizó a la 3*R*-hidroxipirrolidina de fórmula (19a). La hidrólisis se llevó a cabo utilizando una base inorgánica, tal como hidróxido de litio, en un solvente tal como metanol, a 0 a 50º C durante 4 a 24 h. En la Etapa D el grupo protector boc se eliminó utilizando condiciones ácidas tales como TFA o preferiblemente HCl 4 N en dioxano para proporcionar la 3*S*-hidroxipirrolidina de fórmula (19b).

En la Etapa E del Esquema 3, la hidroxipirrolidina de fórmula (19a o b) se alquiló utilizando condiciones de aminación reductoras para dar una N-alquil pirrolidina de fórmula (20a, b, o c). La reacción tiene lugar en un solvente inerte, tal como THF, diclorometano, o preferiblemente, cloroformo, utilizando un reactivo reductor, tal como triacetoxiborohidruro de sodio entre aproximadamente 0 a 50º C durante 8 a 24 h. El aldehído utilizado puede ser tanto formaldehído como acetaldehído para proporcionar compuestos de fórmula (20a, b, o c).

El éster *terc*-butílico del ácido (2*R*,3*S*)-3-hidroxi-2-metanosulfoniloximetil-pirrolidina-1-carboxílico (16) se puede preparar fácilmente mediante procedimientos similares a los descritos en el presente documento o utilizando procedimientos que están establecidos en la técnica. Por ejemplo, se puede proteger 3-hidroxi-L-prolina con boc para dar el ácido (2S,3S)-1-(*terc*-butoxicarbonil)-3-hidroxipirrolidina-2-carboxílico. El ácido carboxílico se redujo al alcohol y se convirtió posteriormente en el mesilato de fórmula (16).

Esquema 4



Se puede llevar a cabo la formación de compuestos de la invención de fórmula (24a y b) de acuerdo con las reacciones tal como se representa gráficamente en el esquema 4.

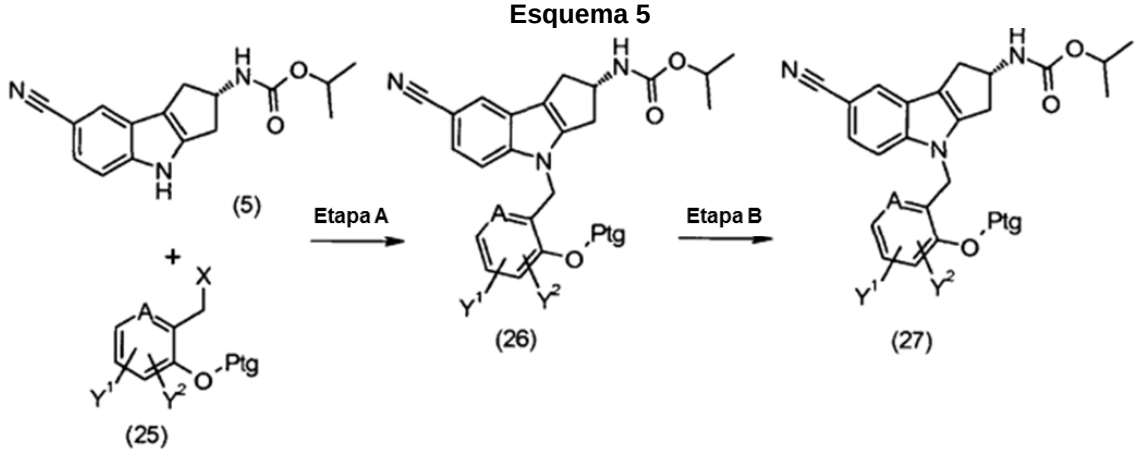
En la Etapa A del esquema 4, el ciano tetrahidrociclopenta[b]indol de fórmula (5) se alquiló con el mesilato de alquilo de fórmula (21a y b) para proporcionar el tetrahidrociclopenta[b]indol alquilado de fórmula (22a y b). El mesilato de alquilo de fórmula (21a y b) se utilizó como una mezcla de dos enantiómeros trans. La alquilación se llevó a cabo de forma similar a las condiciones descritas en la Etapa A del Esquema 3, anteriormente.

En la Etapa B el grupo protector boc se eliminó utilizando condiciones ácidas tales como TFA o preferiblemente HCl 4 N en dioxano.

En la Etapa C del Esquema 4, la hidroxiprolina de fórmula (23a y b) se alquiló utilizando condiciones de aminación reductoras tal como se ha descrito anteriormente para la Etapa E del Esquema 3 para proporcionar una mezcla de enantiómeros trans como la fórmula (24a y b). Los enantiómeros se pueden separar utilizando cromatografía quiral.

Se puede preparar fácilmente el éster *terc*-butílico del ácido *trans*-3-hidroxi-2-metanosulfoniloximetil-3-metil-pirrolidina-1-carboxílico (21a y b) mediante procedimientos similares a los descritos en el presente documento o utilizando procedimientos que están establecidos en la técnica. Se puede obtener, por ejemplo, el *trans*-2-benciloximethyl-3-metil-pirrolidin-3-ol mediante la conversión en un único recipiente del 2,3-aziridin-1-ol adecuado (J. Schomaker y S. Bhattacharjee, J. Am. Chem. Soc., 2007, 129, 1996-2003). A continuación se protegió el nitrógeno del pirrolidinol con t-boc y se eliminó el grupo bencilo mediante hidrogenación. El alcohol resultante se mesiló para dar los enantiómeros trans de fórmula (21a y b).

Esquema 5



Si A = C entonces Y^1 = F, Y^2 = H o F
Si A = N, entonces Y^1 = Y^2 = H
X = Cl o Br,
Ptg = Me o TBDMS

Se puede llevar a cabo la formación de compuestos de la invención de fórmula (27) de acuerdo con las reacciones que se representan gráficamente en el esquema 5.

En la Etapa A del Esquema 5, el ciano tetrahidrociclopenta[b]indol de fórmula (5) se alquiló con el haluro de bencilo o piridilmetilo de fórmula (25) para proporcionar el tetrahidrociclopenta[b]indol alquilado de fórmula (26). El anillo de fenilo o piridilo se sustituyó con la funcionalidad hidroxilo, que se protegió con los grupos protectores (Ptg) conocidos en la técnica, por ejemplo como el metil éter o el silil éter. La alquilación se llevó a cabo de forma similar a las condiciones descritas en la Etapa A del Esquema 3, anterior.

En la Etapa B, se eliminó el grupo protector para dar el fenol o la hidroxipiridina de fórmula (27). El metil éter se convirtió, por ejemplo, en el hidroxilo libre mediante reacción con tribromuro de boro en un solvente inerte tal como diclorometano a una temperatura de aproximadamente -20 a 25º C. alternativamente, se puede eliminar un grupo protector de sililo con el anión fluoruro utilizando reactivos tales como fluoruro de cesio o preferiblemente fluoruro de tetrabutilamonio.

Se pueden preparar fácilmente los haluros de bencilo de fórmula (25) mediante procedimientos similares a los descritos en el presente documento o utilizando los procedimientos que están establecidos en la técnica. Por ejemplo, se pueden alquilar los fluoro o difluoro 2-hidroxibenzaldehídos para proporcionar 2-metoxibenzaldehído. Se puede reducir el benzaldehído al correspondiente alcohol bencílico y a continuación convertirse en el (clorometil)-2 metoxibenceno de fórmula (25) en la que X = Cl y Ptg = Me. Alternativamente, se pueden sililar los fluoro o difluoro 2-metilfenoles con *t*-butildimetilclorosilano seguido por reacción con la N-bromosuccinimida para obtener el bromuro de bencilo de fórmula (25), en la que X = Br y Ptg = TBDMS. Se puede obtener la 2-(clorometil)-3-metoxipiridina a partir de la 3-metoxi-2-picolina mediante cloración con $POCl_3$.

Determinación de la actividad biológica:

Tal como se evidenció mediante los ensayos *in vitro* e *in vivo*, los compuestos ilustrados de Fórmula (I) poseen perfiles de actividad que sugieren que tienen utilidad en el tratamiento de trastornos sensibles a la terapia con andrógenos esteroideos. En particular, los compuestos ilustrados de los Ejemplos 1-10 y 12 de Fórmula (I) son potentes ligandos de AR que agonizan el receptor de andrógenos. Además, los compuestos ilustrados de los Ejemplos 1-10 y 12 de Fórmula (I) se unen selectivamente al AR con respecto a cada uno del MR, GR, y PR.

Tal como se usa en el presente documento, "K_d" se refiere a la constante del equilibrio de disociación de un complejo ligando-receptor, "Ki" se refiere a la constante del equilibrio de disociación del complejo fármaco-receptor, y es una indicación de la concentración de fármaco que se unirá a la mitad de los sitios de unión en equilibrio; "K_b" se refiere a la constante del equilibrio de disociación de un complejo antagonista-receptor, "CI50" se refiere a la concentración de un agente que produce un 50 % de la respuesta inhibidora máxima posible de este agente o, alternativamente, para la concentración de un agente que produce un 50 % de la respuesta máxima posible de este agente; y "DE50" se refiere a la dosis de un agente terapéutico administrado que produce un 50 % de la respuesta máxima de este agente.

Ensayo de unión al receptor nuclear de la hormona esteroide:

Los lisados celulares de células HEK293 de riñón embriónico humano que expresan en exceso el MR (receptor mineralcorticoide), el GR (receptor glucocorticoide), el AR (receptor de andrógenos), o el PR (receptor de la

progesterona) se utilizan en los ensayos de competición receptor-ligando para determinar los valores de K_i. se proporcionan a continuación los procedimientos típicos.

De manera breve, los ensayos de competición por el receptor de esteroides se hacen avanzar en un tampón que contiene tampón HEPES 20 mM (pH = 7,6), EDTA 0,2 mM, NaCl 75 mM, $MgCl_2$ 1,5 mM, glicerol al 20 %, molibdato de sodio 20 mM, DTT 0,2 mM (ditiotreitol), 20 µg/ml de Aprotinina y 20 µg/ml de leupeptina (tampón de ensayo). Normalmente, los ensayos de unión al receptor de esteroides incluyen ligandos radiomarcados, tal como [^{3}H]-aldosterona 0,25 nM para la unión del MR, [^{3}H]-dexametasona 0,3 nM para la unión del GR, [^{3}H]-metiltrienolona 0,36 nM para la unión del AR, y [^{3}H]-metiltrienolona 0,29 nM para la unión del PR, y cualquiera de 20 µg de lisado de 293-MR, 20 µg de lisado de 293-GR, 22 µg de lisado de 293-AR, 0 40 µg de lisado de 293-PR por pocillo. Los ensayos se hacen avanzar normalmente en un formato de 96 pocillos. Los compuestos del ensayo de competición se añaden a diversas concentraciones que varían desde aproximadamente 0,01 nM a 10 µM. Se determinó la unión no específica en presencia de aldosterona 500 nM para la unión del MR, dexametasona 500 nM para la unión del GR, o metiltrienolona 500 nM para la unión del AR y PR. Las reacciones de unión (140 µl) se incubaron durante la noche a 4º C, a continuación se añadieron 70 µl de tampón carbón activo-dextrano frío (que contenía por 50 ml de tampón de ensayo, 0,75 g de carbón activo y 0,25 g de dextrano) a cada reacción. Se mezclaron las placas durante 8 minutos en un agitador orbital a 4º C. A continuación se centrifugaron las placas a 3.000 rpm a 4º C durante 10 minutos. A continuación se transfirió una alícuota de 120 µl de la mezcla de la reacción de unión a otra placa de 96 pocillos y se añadieron 175 µl de fluido de centelleo Wallac Optiphase Hisafe 3™ a cada pocillo. Las placas se sellaron y se agitaron vigorosamente en un agitador orbital. Tras una incubación de 2 horas, se leyeron las placas en un contador Wallac Microbeta

Se utilizaron los datos para calcular la CI50 estimada y el porcentaje de inhibición a 10 µM, Se determinó la Kd de la [^{3}H]-aldosterona para la unión del MR, de la [^{3}H]-dexametasona para la unión de GR, de la [^{3}H]-metiltrienolona para la unión del AR, o de la [^{3}H]-metiltrienolona para la unión del PR mediante unión de saturación. Los valores de CI50 de los compuestos se convirtieron a Ki utilizando la ecuación de Cheg-Prusoff.

Siguiendo el protocolo esencialmente tal como se ha descrito anteriormente, los compuestos de los Ejemplos 1 – 10 y 12 muestran una Ki en el ensayo de unión del AR de ≤ 500 nM. Específicamente, los compuestos de los Ejemplos 1, 2, 6, y 9 mostraron una Ki en el ensayo de unión del AR de aproximadamente 51 nM, 11nM, 13 nM, y 0.8 nM respectivamente, demostrando de esta manera que los compuestos comprendidos dentro del alcance de la presente invención son potentes ligandos del AR humano.

Ensayos funcionales de la modulación esteroide del receptor de la hormona nuclear:

Los andrógenos ejercen sus efectos fisiológicos a través de la interacción con el receptor de andrógenos. Tras la unión citoplásmica de un andrógeno al AR, el complejo del receptor del ligando se transloca en el núcleo de la célula donde se une a los elementos de respuesta de la hormona en el ADN para iniciar la expresión de los genes diana. Los efectos de los andrógenos en la naturaleza se pueden clasificar como anabólicos o androgénicos. Los efectos anabólicos (es decir, la construcción de tejidos) de los andrógenos incluyen el aumento de la masa muscular y de la fuerza y la masa ósea, mientras que los efectos androgénicos (es decir, la masculinización) incluyen el desarrollo de características sexuales secundarias en los hombres tales como los tejidos reproductores internos (es decir, la próstata y la vesícula seminal), los órganos genitales externos (pene y escroto), la líbido, sus modelos de crecimiento del pelo.

Para demostrar la capacidad de los compuestos de la presente invención de modular la actividad de los receptores de las hormonas esteroides (es decir, cualquiera de agonizar, agonizar parcialmente, antagonizar parcialmente, o antagonizar), se llevaron a cabo bioensayos que detectan la modulación funcional de la expresión del gen diana en las células transitoriamente afectadas con una proteína del receptor nuclear y una construcción elemento de respuesta a la hormona-gen indicador. Los solventes, reactivos, y ligandos empleados en el ensayo funcional están fácilmente disponibles a partir de fuentes comerciales, o los puede preparar el experto en la técnica. Lo siguiente proporciona procedimientos típicos para los ensayos funcionales del receptor de la hormona nuclear.

A. Panel de cribado del receptor de la hormona nuclear

Células HEK293 de riñón embriónico humano se transfectaron con plásmidos del receptor de la hormona esteroide y del gen indicador utilizando un reactivo de transfección adecuado tal como Fugene™. De manera breve, el plásmido indicador que contenía dos copias del promotor de la probasina ARE y TK (timidina quinasa) en la dirección 5' del ADNc indicador de la luciferasa, se transfectó en células HEK293 con un plásmido que expresaba constitutivamente el receptor del andrógeno humano (AR) que utiliza el promotor del CMV vírico (citomegalovirus). El plásmido indicador que contenía dos copias del promotor GRE y TK en la dirección 5' del ADNc indicador de la luciferasa se transfectó con un plásmido que expresaba constitutivamente cualquiera del receptor glucocorticoide humano (GR), el receptor mineralcorticoide humano (MR), o el receptor de la progesterona humana (PR) utilizando el promotor del CMV. Se transfectaron las células en matraces T de 150 cm en medio DMEM con suero bovino fetal (FBS) tratado con carbón activo al 5 %, se incubaron durante 4 horas y a continuación se expusieron a diversas concentraciones de los compuestos de ensayo que variaban desde aproximadamente 0,01 nM a 10 µM. En el modo antagonista de los ensayos, se añadieron a los medios concentraciones bajas de agonista para cada receptor respectivo

(aldosterona 0,08 nM para el MR, dexametasona 0,25 nM para el GR, metiltrienolona 0,66 nM para el AR, y promegestona 0,08 nM para el PR). Tras 24 horas de incubación con los compuestos de ensayo, se lisaron las células y se determinó la actividad de la luciferasa utilizando técnicas normalizadas.

Se ajustaron los datos a una curva logística de ajuste a cuatro parámetros para determinar los valores de la CE50. Se determinaron la eficacia porcentual (compuestos con respuestas máximas saturadas) o la máxima estimulación porcentual (compuestos con respuestas máximas que no se saturan) con respecto a la estimulación máxima obtenida con los siguientes agonistas de referencia: aldosterona 30 nM para el ensayo del MR, metiltrienolona 100 nM para el ensayo del AR, promegestona 20 nM para el ensayo del PR, y con dexametasona 100 nM para el ensayo del GR. Se determinaron los valores de la CI50 de forma similar utilizando datos de ensayo en modo antagonista. En el modo antagonista, se determinaron las inhibiciones porcentuales comparando la actividad del compuesto de ensayo en presencia de una concentración baja de agonista (aldosterona 0,08 nM para el RM, dexametasona 0,25 nM para el GR, metiltrienolona 0,66 nM para el AR, y promegestona 0,08 nM para el PR) para la respuesta producida por la misma concentración baja de agonista en ausencia del compuesto de ensayo.

B. Ensayo del indicador AR/ARE en C2C12

Como indicador de la actividad agonista en el tejido muscular, se llevó a cabo el ensayo del indicador AR/ARE en C2C12. De manera breve, se transfectaron simultáneamente células C2C12 de mioblastos de ratón utilizando reactivo Fugene™. Un plásmido indicador que contenía un GRE/ARE (elemento de respuesta a glucocorticoides/elemento de respuesta a andrógenos) y un promotor TK del ADNc indicador de la luciferasa, se transfectó con un plásmido que expresaba de forma constitutiva el receptor de andrógenos humano (AR) utilizando un promotor CMV vírico. Se transfectaron las células en matraces T de 150 cm en medio DMEM con suero bovino fetal (FBS) tratado con carbono activo al 4 %. Tras 5 horas de incubación, las células transfectadas se tripsinizaron, se plaquearon en placas de 96 pocillos en medio DMEM que contenían FBS tratado con carbón activo al 4 %, se incubaron durante 2 h y a continuación se expusieron a diversas concentraciones de los compuestos de ensayo que variaban desde aproximadamente 0,01 nM a 10 μM. Después de 48 h de incubaciones con los compuestos, se lisaron las células y se determinó la actividad de la luciferasa mediante técnicas normalizadas. Se ajustaron los datos a una curva logística de ajuste a cuatro parámetros para determinar los valores de la CE50. Se determinó la eficacia porcentual frente a la estimulación máxima obtenida con metiltrienolona 10 nM.

El experto en la técnica puede diseñar fácilmente ensayos funcionales de modulación del receptor de la hormona nuclear de la hormona esteroide similares a los descritos anteriormente. Siguiendo el protocolo esencialmente tal como se ha descrito anteriormente, los compuestos de los Ejemplos 1-10 y 12 muestran una CE50 en el ensayo del indicador AR/ARE en C2C12 de ≤ 2000 nM. Específicamente, los compuestos de los Ejemplos 1, 2, 6, y 9 mostraron una CE50 en el ensayo del indicador AR/ARE en C2C12 de aproximadamente 20, 1,0, 0,3, y 0,3 respectivamente, demostrando de esta manera que los compuestos comprendidos dentro del alcance de la presente invención son agonistas del AR humano.

Modelo de eficacia y selectividad:

Ratas Sprague Dawley machos (24 semanas de edad) se castraron (gonadectomizaron o “GDX”) de acuerdo con los procedimientos aprobados y se dejaron reposar durante ocho semanas. Se prepararon también animales control con operación simulada emparejados por edad. Los animales se alojaron en una habitación a temperatura controlada (24º C) con un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas invertido y el agua y el alimento estaban disponibles *a voluntad*.

Los animales se aleatorizaron basándose en el peso corporal antes de adscribirlos de la prueba de la ranura. Se administraron los compuestos de la presente invención diariamente mediante sonda nasogástrica oral a las treinta ratas de dos semanas de edad castradas (peso corporal de aproximadamente 450-500 g) utilizando un vehículo convencional tal como carboximetilcelulosa de sodio al 1 % (CMC) + Tween 80 al 0,25 % + AntiFoam® al 0,05 % en H_2O estéril. Las ratas control con operación simulada tratadas únicamente con el vehículo se utilizaron como controles positivos del tratamiento mientras que las ratas castradas tratadas únicamente con el vehículo se utilizaron como control negativo del tratamiento.

Los animales del ensayo se dosificaron diariamente durante un marco temporal de 2 u ocho semanas con, por ejemplo, 0,3, 1, 2, 3 o 6 mg/kg/día de un compuesto de la presente invención. Tras el periodo de tratamiento, los animales se sacrificaron y se puede determinar el peso en húmedo del músculo Elevador del Ano (LA) y del músculo bulbocavernoso del grupo control castrado únicamente con vehículo (tras el pesado, el músculo bulbocavernoso se puede congelar instantáneamente en nitrógeno líquido para el posterior uso en la medición de la ARNm sintasa del óxido nítrico, tal como se describe a continuación). Como un indicador de la actividad selectiva del tejido, se puede comparar de forma similar el peso en húmedo de la próstata de los animales de la prueba con el peso en húmedo de la próstata del grupo de animales castrados, únicamente con el vehículo.

Siguiendo el protocolo esencialmente tal como se ha descrito anteriormente utilizando un periodo de tratamiento de ocho semanas, los estudios con el compuesto del Ejemplo 2 produjeron los siguientes resultados: los animales control con operación simulada (únicamente con el vehículo) mostraron un peso en húmedo promedio del músculo LA de aproximadamente 0,255 g, un peso en húmedo promedio de la próstata de aproximadamente 824,5 mg, y un

peso en húmedo promedio del musculo bulbocavernoso de aproximadamente 0,93 g; Los animales castrados/únicamente con el vehículo mostraron un peso en húmedo promedio del músculo LA de aproximadamente 0,094, un peso en húmedo promedio de la próstata de aproximadamente 103,8 mg, y un peso en húmedo promedio del músculo bulbocavernoso de aproximadamente 0,362 g; los grupos de estudio de 0,3 mg/kg mostraron un peso en húmedo promedio del músculo LA de aproximadamente 0,137 g, un peso en húmedo promedio de la próstata de 72,4 mg, y un peso en húmedo promedio del músculo bulbocavernoso de aproximadamente 0,476 g; los grupos de estudio de 1,0 mg/kg mostraron un peso en húmedo promedio del músculo LA de aproximadamente 0,182 g, un peso en húmedo promedio de la próstata de aproximadamente 102,8 mg, y un peso en húmedo promedio del músculo bulbocavernoso de aproximadamente 0,582 g; los grupos de estudio de 3,0 mg/kg mostraron un peso en húmedo promedio del músculo LA de aproximadamente 0,205 g, un peso en húmedo promedio de la próstata de aproximadamente 147,4 mg, y un peso en húmedo promedio del músculo bulbocavernoso de aproximadamente 0,698 g; y los grupos de estudio de 6,0 mg/kg mostraron un peso en húmedo promedio del músculo LA de aproximadamente 0,264 g, un peso en húmedo promedio de la próstata de aproximadamente 271,8 mg, y un peso en húmedo promedio del músculo bulbocavernoso de aproximadamente 0,955 g.

De esta manera, el tratamiento con el compuesto del Ejemplo 2 produjo un aumento dependiente de la dosis en el músculo Elevador del Ano y los pesos del músculo bulbocavernoso en comparación con el grupo control castrado.

Ensayo in vitro de la actividad eréctil

La ruta de la óxido nítrico sintasa/monofosfato de guanosina cíclica (NOS/cGMP) es crítica para la actividad eréctil. La expresión de NOS conduce a la generación de óxido nítrico (NO) que, a la vez, promueve la generación de cGMP a través de la activación de la guanilil ciclasa. cGMP promueve la actividad de la proteína quinasa G (PKG) que media en la relajación del músculo liso corporal para facilitar la erección del pene. La evidencia apoya un papel de los andrógenos en la regulación de la expresión y en la actividad de las isoformas de NOS en el cuerpo cavernoso en modelos animales experimentales. Traish y col., European Urology, 52; 54-70 (2007). De esta manera, los moduladores del receptor de andrógenos, que son capaces de aumentar la expresión de las isoformas de NOS, se cree que tienen un papel en la regulación de la actividad eréctil del pene.

Para determinar la capacidad de los compuestos de la presente invención de regular en exceso la expresión de las isoformas de NOS, se puede emplear lo siguiente en los procedimientos in vitro.

Se aisló ARN de tejidos bulbosos y del cuerpo cavernoso congelados que se obtuvieron en necropsia de ratas Sprague Dawley castradas que se prepararon y dosificaron esencialmente tal como se ha descrito anteriormente para el Modelo de Eficacia y Selectividad. Se sintetizó ADNc a partir de 2 µg de ARN utilizando un kit de ADNc de alta capacidad de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

A continuación se llevó a cabo la PCR cuantitativa en tiempo real de acuerdo con la metodología TaqMan® fluorescente (Applied Biosystems). Se usaron sondas Assays-on-Demand™ (Applied Biosystems) para transcrito de la óxido nítrico sintasa epitelial de rata (eNOS) a la vez que se diseñaban sondas para la isoforma específica del pene de rata de la óxido nítrico sintasa neuronal (pnNOS) utilizando un software diseñador de sondas (Applied Biosystems). Se diseñaron las sondas para ampliar una región de 102 pb del gen de la óxido nítrico sintasa neuronal de rata (pnNOS) que es específico de pnNOS (posiciones 2865-2967). Las secuencias del cebador MGB™ son S'CCGGAACCCTTGCGTTT 3' (SEQ ID NO: 1) (directo) y 5'CAGACTGTGGGCTTCAGAGTCA 3' (SEQ ID NO: 2) (inverso) y la secuencia de la sonda es 5'CCCGTAAAGGGCCT 3' (SEQ ID NO: 3) (FAM NFQ). Se utilizaron los conjuntos de la sonda Assays-on-Demand™ para el transcrito PPIB como un control interno. Se llevó a cabo la PCR en un Sistema de detección de secuencias ABI Prism 7700 con las siguientes condiciones del termociclador: 2 min. a 50º C, 10 min. a 95º C, y 40 ciclos a 95º C durante 30 s, y 60º C durante 1 min. Todas las reacciones se llevaron a cabo por triplicado.

Utilizando procedimientos esencialmente tal como se ha descrito en el presente documento, el compuesto del Ejemplo 2 muestra un incremento dependiente de la dosis en el ARNm de la óxido nítrico sintasa del pene (pnNOS) en los tejidos del bulbo cavernoso obtenidos de ratas Sprague Dawley castradas tratadas durante un marco temporal de ocho semanas. Específicamente, los grupos de estudio de 0,3 mg/kg mostraron una expresión de pnNOS de aproximadamente 97 % la del control; el grupo de estudio de 1,0 mg/kg mostró una expresión de pnNOS de aproximadamente 93 % la del control, el grupo de estudio de 3,0 mg/kg mostró una expresión de pnNOS de aproximadamente 153 % la del control; y el grupo de estudio de 6,0 mg/kg mostró una expresión de pnNOS de aproximadamente 248 % la del control.

Además, en un grupo separado, el compuesto del Ejemplo 2 muestra un incremento en el ARNm de la óxido nítrico sintasa epitelial (eNOS) en el tejido del cuerpo cavernoso obtenido de ratas Sprague Dawley castradas tratadas durante un marco temporal de dos semanas a 2 mg/kg/día. Específicamente, la expresión de eNOS en el grupo de estudio fue aproximadamente de 159 % la del control.

Se pueden producir reducciones en la masa o la fuerza muscular como resultado de la inmovilización o la falta de uso tras, por ejemplo, fracturas óseas o sustituciones de cadera o rodilla. Con el fin de determinar la capacidad de los compuestos de la presente invención de tratar o evitar la pérdida de masa o fuerza muscular inducida por

inmovilización, falta de uso o trauma, se pueden emplear los siguientes modelos animales.

Modelo de pérdida muscular inducida por inmovilización

Se inmovilizó una extremidad posterior de ratones ICR machos de 12 semanas de edad en el modo de flexión plantar colocando una escayola en la extremidad. Tras siete días de inmovilización, los ratones se trataron con una administración diaria de un compuesto de la presente invención durante diversos periodos de tiempo. Los animales control, con o sin escayolas, se trataron de forma similar con vehículo durante diversos periodos de tiempo. Al final del protocolo de tratamiento, se sacrificaron los ratones, se determinaron los pesos en húmedo del músculo gastrocnemio de los ratones escayolados y se compararon los grupos individuales de tratamiento con los controles del vehículo. Véase generalmente Am. J. Endocrinol. Metab. 289: 969-980 (2005).

Modelo de lesión y trauma muscular

Se castraron ratones ICR machos a las 8 semanas de edad y se dejaron reposar durante 8 semanas más. Se alojaron los ratones en jaulas individualmente y se mantuvieron durante un ciclo de 12 h de luz/oscuridad a 22º C con acceso a voluntad al alimento y al agua. Se anestesiaron los ratones con isofluorano (1-5 %) y el músculo gastrocnemio derecho se inyectó bilateralmente con 100 µl de una cardiotoxina 10 µM (naja naja atra, Sigma Aldrich) para inducir la lesión muscular. Los animales se recuperaron de la anestesia y recuperaron su actividad normal en 5 minutos. En el día 5 después de la inyección, los animales se trataron con diversas dosis de un compuesto de la presente invención. Tras el día 14 después de la inyección, los ratones tratados se sometieron a eutanasia, se pesaron, y se recogió el tejido del músculo gastrocnemio de los miembros no inyectados (control contra-lateral) y de los inyectados con cardiotoxina. Los pesos de los músculos se hicieron corresponder con el control no inyectado y no tratado para establecer la recuperación porcentual del trauma.

Para demostrar que los compuestos de la presente invención tienen la capacidad de tratar los trastornos asociados con la pérdida de hueso, tal como osteoporosis u osteopenia, se pueden emplear otros modelos animales bien conocidos por los expertos en la técnica. Se proporcionan ejemplos de dichos modelos en Y. L. Ma y col., Japanese Journal of Bone and Mineral Metabolism 23 (Suppl.): 62-68 (2005); Y.L. Ma y col., Endocrinology 144: 2008-2015 (2003); y K. Hanada y col., Biol. Pharm. Bull. 26(11): 1563-1569 (2003). Se hace mención particular al Modelo de rata hembra de osteopenia por deficiencia de estrógenos inducida por ovariectomía y al Modelo de rata macho de osteopenia por deficiencia de andrógenos inducida por orquidectomía.

Modelo de osteopenia por deficiencia de estrógenos inducida por ovariectomía:

Ratas Sprague Dawley hembras vírgenes de seis meses de edad que pesaban aproximadamente 220 g se alojaron con acceso *a voluntad* al alimento y al agua Se llevaron a cabo ovariectomías bilaterales (Ovx) en los animales (excepto para los controles con operación simulada) y a continuación se aleatorizaron en grupos de tratamiento de 7-8 ratas por grupo. Cada ensayo contiene normalmente al menos 2 conjuntos de controles, incluyendo los controles con ovariectomía simulada (Sham) y los controles ovariectomizados (Ovx) tratados con el vehículo. Se permitió la pérdida ósea en las ratas Ovx durante 1 mes para establecer la osteopenia antes del tratamiento con el compuesto de ensayo. Se administraron los compuestos del ensayo por vía oral mediante una sonda nasogástrica a los animales Ovx durante 8 semanas. Como control positivo, se puede proporcionar PTH recombinante humana (1-38) (aproximadamente 10 pg/kg/d por vía subcutánea) a un subconjunto de animales Ovx. Tras la finalización del protocolo de ensayo, se utilizó la tomografía computerizada cuantitativa (QCT) para analizar la densidad mineral ósea volumétrica (BMD, mg/cc) de la vértebra lumbar L-5 y del fémur. Se llevaron a cabo loa análisis de plegado en la diáfisis femoral y se cargaron hasta fallar en el fémur proximal utilizando una máquina de ensayos mecánicos de materiales y se analizaron utilizando el software TestWorks 4®.

Modelo de osteopenia por deficiencia de andrógenos inducida por orquidectomía:

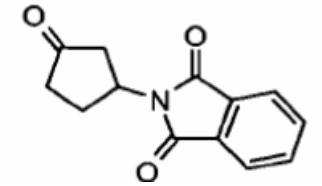
Ratas Sprague Dawley machos de seis meses de edad que pesaban aproximadamente 485 g se alojaron con acceso a voluntad al alimento y al agua. Se llevó a cabo una orquidectomía bilateral (Orx) en los animales (excepto para los controles con operación simulada) y a continuación se aleatorizaron en grupos de tratamiento de 7-8 ratas por grupo. Cada ensayo contiene normalmente al menos 2 conjuntos de controles, incluyendo los controles orquidectomizados de forma simulada (Sham) y los controles orquidectomizados (Orx) tratados con el vehículo. Se permitió la pérdida ósea en las ratas Orx durante 2 meses para establecer la osteopenia antes de que se iniciara el tratamiento con el compuesto de ensayo. Se administraron los compuestos por vía oral mediante una sonda nasogástrica a los animales Ovx durante 8 semanas. Como control positivo, se puede proporcionan PTH recombinante humana (1-38) (aproximadamente 10 µg/kg/d por vía subcutánea) a un subconjunto de animales Orx. Tras la finalización del protocolo de ensayo, se puede llevar a cabo la BMD de la vértebra y el fémur, así como los análisis biomecánicos del fémur tal como se ha descrito anteriormente para el modelo de rata hembra ovariectomizada.
(Véanse generalmente, Ma y col., JBMR 17: 2256-2264 (2002), y Turner y col., Bone [Review] 14: 595-608 (1993)).

Tal como apreciará el experto en la técnica, los protocolos de los modelos animales descritos anteriormente se pueden adaptar fácilmente para el uso junto con los compuestos y procedimientos de la presente invención.

Las siguientes preparaciones y ejemplos ilustran de forma adicional la invención y representan la síntesis típica de los compuestos de Fórmula (I), que incluyen cualquiera de los novedosos compuestos, tal como se ha descrito de manera general anteriormente. Los reactivos y los materiales de partida están fácilmente disponibles para, o se pueden sintetizar fácilmente por el experto en la técnica. Debe entenderse que las preparaciones y ejemplos se muestran a manera de ilustración y no de limitación, y que el experto en la técnica puede realizar diversas modificaciones. La configuración R o S de los compuestos de la invención se puede determinar mediante técnicas normalizadas tales como el análisis de rayos X y la correlación con el tiempo de retención de la HPLC quiral. Los nombres de los compuestos de la presente invención se proporcionan generalmente por el Autonom 2000 agregado para ISIS Draw.

Preparación 1

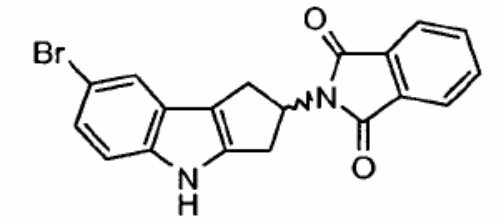
(R,S)-2-(3-Oxo-ciclopentil)-isoindol-1,3-diona



Con agitación vigorosa con un agitador mecánico, se añadió una solución acuosa de Na_2CO_3 2 M (79 l, 0,158 mol) a una suspensión de ciclopentano (110 g, 1,22 mol) y ftalimida (180 g, 1,22 mol) en MeOH (886 ml). Después de aproximadamente 2 h, se formará un precipitado de color blanco espeso. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 24 h. El sólido de color blanco se recogió mediante filtración a vacío y se enjuagó con metanol (1 l). Se suspendió el sólido en agua (1 l) y se agitó durante 3 h. El sólido se recogió y se secó en un horno de vacío a 40º C durante la noche para dar 198 g (71 %) del compuesto del título como un sólido de color blanco. RMN ^{1}H (DMSO-*d6*) δ 7,85-7,77 (m, 4H), 4,90 (m, 1H), 2,67 (ddd, 1H, *J*=18,5, 6,2, 1,3 Hz), 2,54 (dd, 1H, *J*=18,5, 9,2 Hz), 2,45 (m, 1H), 2,32-2,21 (m, 3H); ES/MS *m/z* 230 (M+1, débil). NOTA: El producto experimentará fácilmente la reacción de retro-Michael tras el tratamiento con la base acuosa.

Preparación 2

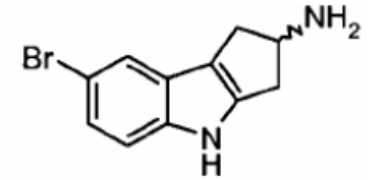
(*R,S*)-2-(7-Bromo-1,2,3,4-tetrahidro-ciclopenta[b]indol-2-il)-isoindol-1,3-diona



En un matraz de 5 l se mezcló la (*R,S*)-2-(3-oxo-ciclopentil)-isoindol-1,3-diona (295,3 g, 1,29 mol), clorhidrato de 4-bromofenil hidrazina (287,9 g, 1,29 mol) y ácido acético glacial (3 l) con agitación mecánica. La reacción se mantuvo a reflujo durante 5 h, y a continuación se enfrió a temperatura ambiente. La reacción se vertió en agua (4 l) con agitación rápida. El sólido se recogió mediante filtración a vacío, se lavó con agua (4 l) y se secó al aire durante 30 min. El sólido se suspendió con MeOH (700 ml), se recogió mediante filtración a vacío y se enjuagó con MeOH (100 ml). El sólido de color gris se secó al aire durante 2 h, a continuación se secó durante la noche en un horno a vacío a 50º C para obtener 414,67 g (84 %) del compuesto del título como un sólido de color oscuro. ES/MS *m/z* (^{79}Br/^{81}Br) 381/383 $[M+H]^+$.

Preparación 3

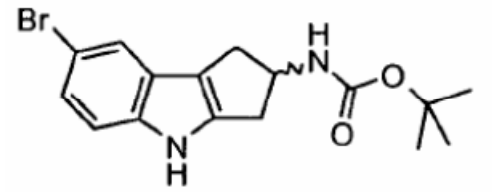
(*R,S*)-7-Bromo-1,2,3,4-tetrahidro-ciclopenta[b]indol-2-ilamina



A una solución de la (R,S)-2-(7-bromo-1,2,3,4-tetrahidro-ciclopenta[b]indol-2-il)-isoindol-1,3-diona (150 g, 393 mmol) en THF (1000 ml) y EtOH (150 ml) se añadió monohidrato de hidrazina (35,0 g, 34,0 ml, 699 mmol). La mezcla de reacción se agitó con agitación mecánica a temperatura ambiente durante 18 h y a continuación durante 2 h a 55º C, después de lo cual la reacción llegó a ser muy viscosa y se añadieron THF (425 ml) y EtOH (75 ml). Se continuó el calentamiento a 55º C durante otras 2 h. Se enfrió la reacción a temperatura ambiente, se filtró a través de tierra de diatomeas, se enjuagó con THF, y se concentró hasta sequedad. El residuo se mezcló con tolueno y EtOH y se concentró de nuevo hasta sequedad. El producto se colocó a vacío elevado durante 3 h, dando como resultado 94 g (95 %) del compuesto del título como un sólido. LC-ES/MS m/z (79Br/81Br,) 251/253 [M+H]+, TR = 1,14 min.

Preparación 4

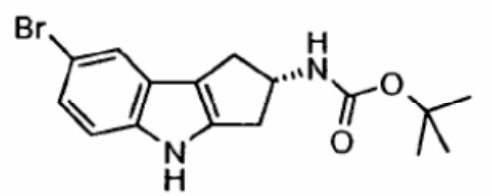
Éster *terc*-butílico del ácido ((*R,S*)-7-bromo-1,2,3,4-tetrahidro-ciclopenta[b]indol-2-il)-carbámico



Una mezcla de (R,S)-7-bromo-1,2,3,4-tetrahidro-ciclopenta[b]indol-2-ilamina (81,5 g, 325 mmol) en THF (800 ml) y disolución saturada acuosa de $NaHCO_3$ (200 ml) se trató poco a poco con dicarbonato de di-*terc*-butilo (80,3 g, 357 mmol) y se agitó a temperatura ambiente durante una hora. La reacción se diluyó con EtOAc (300 ml) y salmuera (100 ml). Se separaron las capas y la capa orgánica se secó con $MgSO_4$ filtrado, y se concentró hasta un sólido oleoso de color oscuro. El sólido se mezcló con CH_2Cl_2 (400 ml), se enfrió en un baño de hielo, y se filtró. El sólido se enjuagó con CH_2Cl_2 y hexanos para recuperar 28,1 g (34 %) del compuesto del título como un sólido. Se obtuvieron unos 78,8 g (60 %) adicionales del compuesto del título concentrando el filtrado y purificándolo mediante cromatografía (1 l de gel de sílice, se cargó como una solución concentrada en CH_2Cl_2 y se eluyó con hexanos/CH_2Cl_2 al 30 %, CH_2Cl_2 al 100 %, a continuación EtOAc/CH_2Cl_2 al 3 %). RMN ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,98-7,91 (m, 1H), 7,54 (s, 1H), 7,25 (s, 2H), 7,20-7,15 (m, 2H), 5,05-5,02 (m, 2H), 3,37-3,29 (m, 2H), 2,77-2,70 (m, 1H), 2,62-2,57 (m, 1H), 1,46 (s, 9H).

Preparación 5

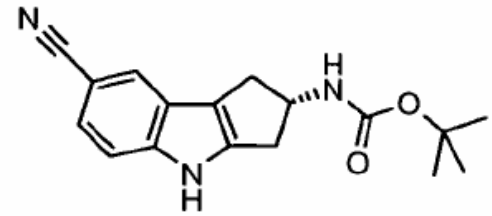
Éster *terc*-butílico del ácido ((S)-7-bromo-1,2,3,4-tetrahidro-ciclopenta[b]indol-2-il)-carbámico



El éster *terc*-butílico del ácido ((R,S)-7-bromo-1,2,3,4-tetrahidro-ciclopenta[b]indol-2-il)-carbámico (635 g, 1810 mmol) se trituró en primer lugar con Et_2O frío y a continuación se purificó mediante HPLC quiral (columna: Chiralcel OJ 8 X 32 cm; eluyente: MeOH al 100 %) para dar como resultado 310 g del compuesto del título (isómero de segunda elución) como un sólido de color castaño. HPLC quiral OJ-H, MeOH al 100 %, detección UV a 250 nm T_R = 7,6 min, 97,8 % de ee.

Preparación 6

Éster *terc*-butílico del ácido ((S)-7-ciano-1,2,3,4-tetrahidro-ciclopenta[b]indol-2-il)-carbámico

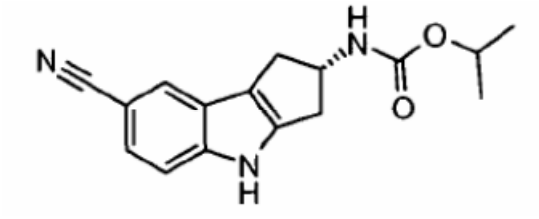


Los siguientes reactivos se agitaron juntos en DMF (250 ml) a 100º C durante 18 h: éster *terc*-butílico del ácido ((S)-7-bromo-1,2,3,4-tetrahidrociclopenta[b]indol-2-il)-carbámico (50,0 g, 142 mmol), cianuro de cinc (11,9 g, 99,7 mmol), acetato de cinc (5,22 g, 28,5 mmol), cloruro de 1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno) paladio (II) ($Pd(dppf)_2Cl_2$) (1,74 g,

2,14 mmol), y cinc (3,72 g, 56,9 mmol). La reacción se concentró hasta sequedad y se repartió entre agua y acetato de etilo. Los extractos orgánicos se lavaron con agua y salmuera, a continuación se concentraron para dar como resultado un sólido. El sólido se cromatografió en dos porciones iguales en gel de sílice (1600 ml) como sigue; se carga como una solución en CH_2Cl_2 y se eluye con EtOAc al 2 % en CH_2Cl_2 (3 l), a continuación EtOAc al 5 % en CH_2Cl_2. El producto se recuperó a partir de las dos columnas para dar 29 g (69 %) del compuesto del título como un sólido de color blanco. RMN ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8,39 (s, 1H), 7,74 (s, 1H), 7,34 (d, J= 1,8 Hz, 2H), 5,05-4,96 (m, 2H), 3,37-3,25 (m, 2H), 2,80-2,63 (m, 2H), 1,46 (s, 9H).

Preparación 7

Éster isopropílico del ácido ((S)-7-cyano-1,2,3,4-tetrahidro-ciclopenta[b]Indol-2-il)-carbámico

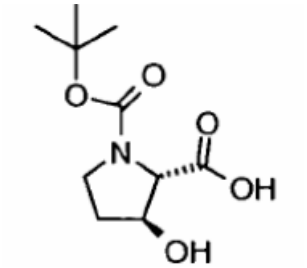


El éster *terc*-butílico del ácido ((S)-7-ciano-1,2,3,4-tetrahidro-ciclopenta[b]indol-2-il)-carbámico (10 g, 33,63 mmol) se disolvió en 1,4-dioxano (102 ml) y se trató con HCl/dioxano 4 M (102 ml) a temperatura ambiente. Después de 18 h, un sólido se eliminó mediante filtración y se lavó con Et_2O (50 ml) y a continuación se secó *a vacío*.

El sólido se suspendió en diclorometano (168 ml) y se trató con diisopropiletilamina (9,13 g, 12,3 ml, 70,1 mmol) y cloroformiato de isopropilo (1,0 M en tolueno, 34,0 ml, 34,0 mmol) a temperatura ambiente. Después de 4 h la reacción se trató con agua (50 ml) y se concentró para dar una suspensión acuosa del producto. La reacción se diluyó adicionalmente con agua (500 ml) y se sonicó durante 15 min en un baño de ultrasonidos. Un sólido de color castaño se eliminó mediante filtración y se secó a vacío a 40º C. El sólido se suspendió en Et_2O (100 ml), se sonicó durante 10 min en un baño de ultrasonidos, se filtró, se lavó con Et_2O (50 ml), y a continuación se secó a vacío para dar 8,20 g (rendimiento del 86 %) del compuesto del título como un sólido de color castaño. LC-ES/MS *m/z* 284 $[M+H]^+$, 282 $[M-H]^-$, T_R = 2,20 min; RMN ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11,44 (s, 1H), 7,78 (s, 1H), 7,52 (d, J= 7,5 Hz, 1H), 7,39 (d, J=8,4 Hz, 1H), 7,28 (dd, J= 1,8, 8,4 Hz, 1H), 4,77-4,63 (m, 2H), 3,18-3,04 (m, 2H), 2,70 (dd, J= 6,2, 15,8 Hz, 1H), 2,58 (dd, J= 6,2, 14,5 Hz, 1H), 1,13 (d, J= 6,2 Hz, 6H).

Preparación 8

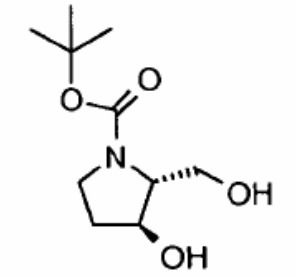
Ácido (2*S*,3*S*)-1-(*terc*-butoxicarbonil)-3-hidroxipyrrolidina-2-carboxílico



Una suspensión de *trans*-3-hidroxi-L-prolina (5 g, 37,56 mmol) en metanol (100 ml) se trató con diisopropiletilamina (6,55 ml, 37,56 mmol) y posteriormente con dicarbonato de di-t-butilo (8,87 g, 39,44 mmol) a temperatura ambiente. La suspensión resultante se agitó durante 2 h a temperatura ambiente convirtiéndose en una solución homogénea. El solvente se eliminó a vacío y el residuo se disolvió en acetato de etilo (120 ml). La solución orgánica se lavó con una disolución acuosa de cloruro de hidrógeno 1 N. La capa acuosa se descartó y la capa orgánica se lavó con salmuera, se secó con sulfato de sodio, se concentró, y se secó a vacío para dar 8,0 g (90 %) del compuesto del título RMN ^{1}H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 12,60 (s, br, 1H), 5,40 (s, br, 1H), 4,20-4,12 (m, 1H), 3,87 (d, J = 6,4 Hz, 1H), 3,25-3,42 (m, 2H), 1,90-1,75 (s, br, 1H), 1,74-1,65 (s, br, 1H), 1,30 (d, J = 7,1 Hz, 9H).

Preparación 9

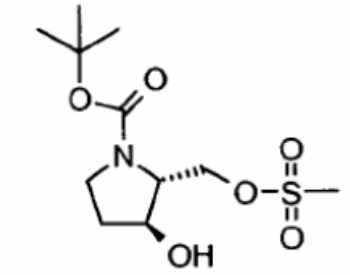
(2*R*,3*S*)-*terc*-butil-3-hidroxi-2-(hidroximetil)pirrolidina-1-carboxilato



Una solución del éster 1-*terc*-butílico del ácido 3-hidroxi-pirrolidina-1,2-dicarboxílico (13,29 g, 57,47 mmol) en tetrahidrofurano (130 ml) se trató con un complejo de sulfuro de borano-metilo (16,06 ml, 172,41 mmol) gota a gota y se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla se enfrió a 5º C en un baño de agua con hielo y se trató con una solución acuosa de cloruro de hidrógeno 3 N (5 ml) gota a gota hasta que cesó la producción del gas. La suspensión resultante se agitó adicionalmente durante 30 min y se diluyó con solución acuosa de hidróxido de sodio 5 N hasta que se disolvió un sólido de color blanco. Este se extrajo con acetato de etilo (3 X 100 ml). La capa orgánica se lavó con agua (2 X 100 ml) y salmuera, se secó con sulfato de sodio, se filtró, y se concentró hasta sequedad. El aceite resultante se secó a vacío para dar 10,03 g (80 %) del compuesto del título. LC-ES/MS *m/z* 457,2 $[2M+Na]^+$, T_R =1,59 min.

Preparación 10

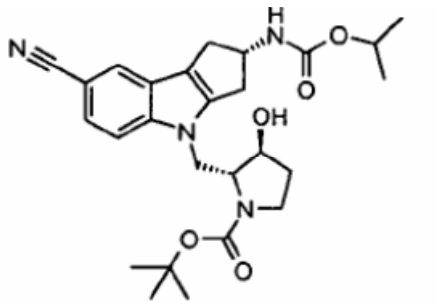
Éster *terc*-butílico del ácido (2*R*,3*S*)-3-hidroxi-2-metanosulfoniloximetil-pirrolidina-1-carboxílico



Una suspensión de (2*R*,3*S*)-*terc*-butil 3-hidroxi-2-(hidroximetil)pirrolidina-1-carboxilato (5,04 g, 23,20 mmol) y dibutiloxostannano (7,07 g, 27,84 mmol) en tolueno (50 ml) se mantuvo a reflujo en un baño de aceite a 130º C durante 2 h. La mezcla se enfrió a 0º C en un baño de hielo durante 30 min y se trató con cloruro de metanosulfonilo (2,15 ml, 27,84 mmol) de una vez. La reacción se agitó durante 30 min a 0º C y a continuación la mezcla se dejó calentar gradualmente a temperatura ambiente durante la noche. La solución se concentró y el residuo resultante se purificó mediante cromatografía líquida a media presión, eluyendo con acetato de etilo:hexano (8:2). Las fracciones que contenían el producto puro se combinaron y se concentraron para dar 6,14 g (96 %) de un aceite denso como el compuesto del título. LC-ES/MS *m/z* 318,2 $[M+Na]^+$, T_R = 2,34 min.

Preparación 11

Éster *terc*-butílico del ácido (2*R*,3*S*)-2-((*S*)-7-ciano-2-isopropoxicarbonilamino-2,3-dihidro-1H-ciclopenta[b]indol-4-ilmetil)-3-hidroxi-pirrolidina-1-carboxílico

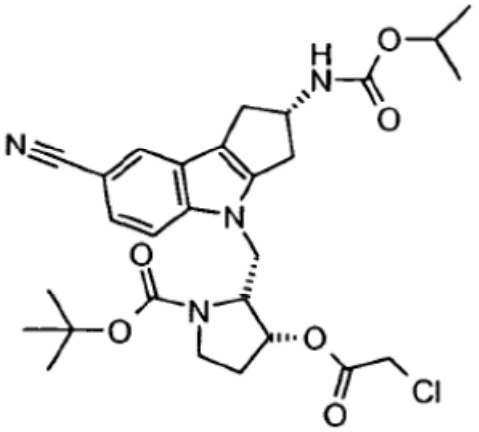


Una mezcla del éster isopropílico del ácido ((*S*)-7-ciano-1,2,3,4-tetrahidro-ciclopenta[b]indol-2-il)-carbámico (1,50 g, 5,29 mmol), el éster *terc*-butílico del ácido (2R,3S)-3-hidroxi-2-metanosulfoniloxi-metil-pirrolidina-1-carboxílico (3,13 g, 10,59 mmol), carbonato de cesio (3,45 g, 10,59 mmol), y yoduro de potasio (88 mg, 529 µmol) en dimetilformamida (50 ml) se calentó en un baño de aceite a 60º C durante dos días. Tras enfriar a temperatura ambiente, la reacción se diluyó con acetato de etilo (120 ml) y se lavó con agua (3 X 100 ml) y salmuera. La porción

orgánica se secó con sulfato de sodio, se filtró, y se concentró hasta sequedad. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía líquida a media presión, eluyendo con acetato de etilo:cloroformo (2:8). Las fracciones que contenían el producto puro se combinaron y se concentraron para dar como resultado 1,59 g (62 %) del compuesto del título LC-ES/MS *m/z* 505,2 $[M+Na]^+$, T_R = 3,97 min.

Preparación 12

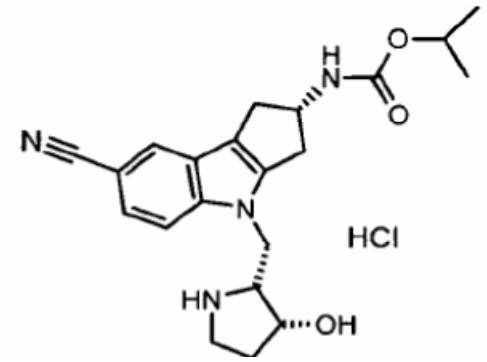
Éster *terc*-butílico del ácido (2*R*,3*R*)-3-(2-cloro-acetoxi)-2-((S)-7-ciano-2-isopropoxycarbonilamino-2,3-dihidro-1H-ciclopenta[b]indol-4-ilmetil)-pirrolidina-1-carboxílico



Una mezcla del éster *terc*-butílico del ácido (2*R*,3*S*)-2-((*S*)-7-ciano-2-isopropoxicarbonilamino-2,3-dihidro-1H-ciclopenta[b]indol-4-ilmetil)-3-hidroxi-pirrolidina-1-carboxílico (950 mg, 1,97 mmol), ácido cloroacético (227 mg, 2,36 mmol), y trifenilfosfina (626 mg, 2,36 mmol) en tetrahidrofurano (20 ml) se trató con azodicarboxilato de dietilo (374 µl, 2,36 mmol) gota a gota a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó durante la noche. La reacción se diluyó con acetato de etilo (50 ml) y a continuación se lavó con agua y salmuera. La porción orgánica se secó con sulfato de sodio y se concentró. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía líquida a media presión, eluyendo con acetato de etilo:hexano (1:1). Las fracciones que contenían el producto puro se combinaron y se concentraron para dar como resultado 0,59 g (54 %) del compuesto del título. LC-ES/MS *m/z* 581,0 $[M+Na]^+$, T_R = 4,46 min.

Preparación 13

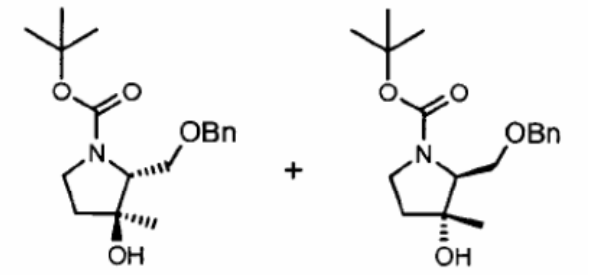
Clorhidrato del éster isopropílico del ácido [(S)-7-ciano-4-((2*R*,3*R*)-3-hidroxi-pirrolidin-2-ilmetil)-1,2,3,4-tetrahidro-ciclo-penta[b]indol-2-il]-carbámico



Una solución del éster *terc*-butílico del ácido (2*R*,3*R*)-3-(2-cloro-acetoxi)-2-((*S*)-7-ciano-2-isopropoxicarbonilamino-2,3-dihidro-1H-ciclopenta[b]indol-4-ilmetil)-pirrolidina-1-carboxílico (500 mg, 894,4 µmol) en MeOH (2 ml) se trató con solución de LiOH 2 N (2 ml) y la suspensión se agitó durante 4 h a temperatura ambiente. La suspensión se diluyó con acetato de etilo (60 ml) y se lavó con agua y salmuera. La porción orgánica se secó con sulfato de sodio, se filtró y se concentró. El residuo (0,39 g) se disolvió en 10 ml de MeOH (10 ml) y se trató con HCl 4 N en solución de 1,4-dioxano (10 ml). La solución se agitó durante 2 h y se concentró *a vacío* para dar como resultado 0,37 g (92 %) del compuesto del título. LC-ES/MS *m/z* 383,2 $[M+H]^+$, T_R = 1,86 min.

Preparación 14

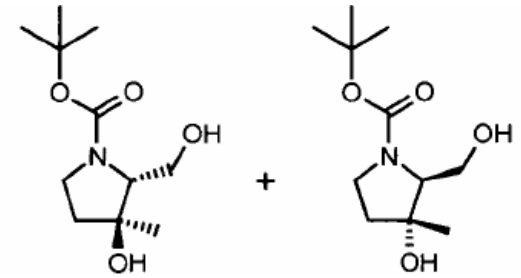
Éster *terc*-butílico del ácido *trans*-2-benciloximetil-3-hidroxi-3-metil-pirrolidina-1-carboxílico



Una solución de *trans*-1-bencenosulfonil-2-benciloximetil-3-metil-pirrolidin-3-ol (13,42 g, 35,74 mmol) (J. Schomaker y S. Bhattacharjee, J. Am. Chem. Soc., 2007, 129, 1996-2003) en metanol anhidro (100 ml) se trató con virutas de magnesio (5,26 g, 214,4 mmol) y se sonicó durante 45 min en un baño de agua. La suspensión turbia resultante se agitó en un baño de aceite a 40º C durante 20 h. Se añadió gel de sílice (30 ml) a la mezcla de reacción y se diluyó con metanol (50 ml) hasta que la suspensión se pueda mezclar. La suspensión se agitó durante 30 min y se concentró. El residuo se secó a vacío durante la noche. El residuo de sílice se cargó en un cartucho DASI®65, eluyendo con cloroformo:metanol:amonio acuoso (90.9:1). Se obtuvo el *trans*-1-bencenosulfonil-2-benciloximetil-3-metil-pirrolidin-3-ol de partida (4,0 g) así como el material desprotegido deseado (5,47 g). El material desprotegido se disuelve en tetrahidrofurano (20 ml) y se trata con dicarbonato de t-butilo (5,7 g, 26,1 mmol). La solución se agitó durante una hora y se concentró. El residuo se diluyó con acetato de etilo (100 ml) y se lavó con una disolución acuosa de hidróxido de sodio 0,5 N (50 ml) y salmuera. La porción orgánica se secó con sulfato de sodio, se filtró, y se concentró. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía líquida de media presión, eluyendo con acetato de etilo:hexano (1:1). Las fracciones que contenían el producto puro se combinaron y se concentraron para dar como resultado 8,15 g (71 %) del compuesto del título. LC-ES/MS *m/z* 344.2 $[M+Na]^+$, T_R = 3,71 min.

Preparación 15

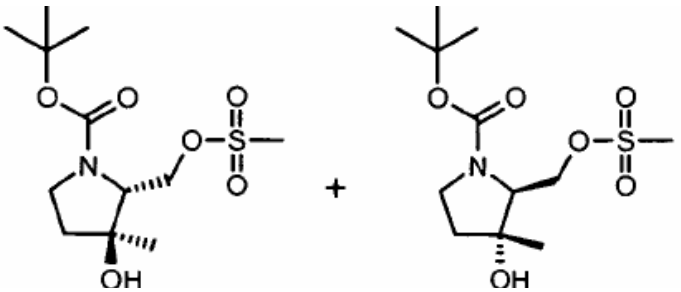
Éster *terc*-butílico del ácido *trans*-3-hidroxi-2-hidroximetil-3-metil-pirrolidina-1-carboxílico



Una solución del éster *terc*-butílico del ácido *trans*-3-hidroxi-2-hidroximetil-3-metil-pirrolidina-1-carboxílico (8,12 g, 25,26 mmol) en metanol (100 ml) se trató con paladio sobre carbón activo al 5 % (húmedo en un 50 %, 3 g, 28,19 mmol) y se hidrogenó a 350 kPa durante la noche. El catalizador se eliminó mediante filtración y el filtrado se concentró. El aceite resultante se secó a vacío para dar 5,8 g (99 %) del compuesto del título. GC-MS *m/z* 231 $[M]^+$.

Preparación 16

Éster *terc*-butílico del ácido *trans*-3-hidroxi-2-metanosulfoniloximetil-3-metil-pirrolidina-1-carboxílico

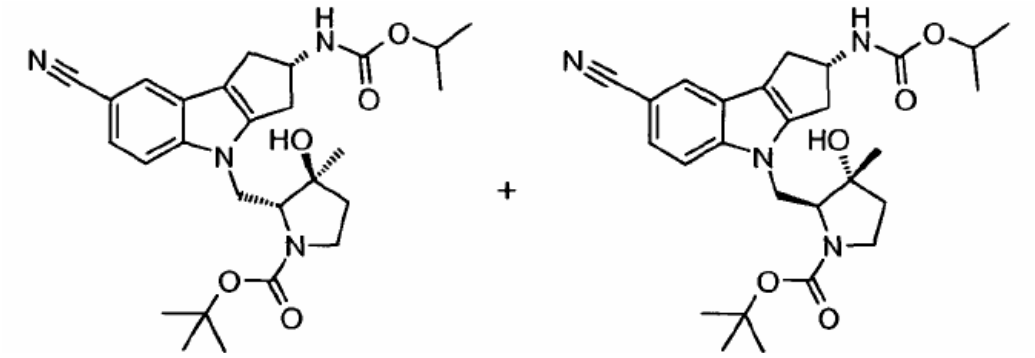


Una mezcla del éster *terc*-butílico del ácido *trans*-3-hidroxi-2-metanosulfoniloximetil-3-metil-pirrolidina-1-carboxílico (2,69 g, 11,63 mmol) y trietilamina (1,78 ml, 12,79 mmol) en diclorometano (100 ml) se enfrió en un baño de

acetonitrilo/hielo seco (-40º C) durante 30 min y se trató con cloruro de metanosulfonilo (945,21 µl, 12,21 mmol) de una vez. La solución se agitó durante una hora a -40º C y se vertió en un embudo de decantación que contenía diclorometano (50 ml) y agua (100 ml). La solución orgánica se lavó con agua y salmuera, se secó con sulfato de sodio, se filtró, y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía líquida a media presión, eluyendo con acetato de etilo:hexano (8:2). Las fracciones que contenían el producto puro se combinaron y se concentraron para dar como resultado 3,30 g (91 %) del compuesto del título. LC-ES/MS *m/z* 640,6 $[2M+Na]^+$, T_R = 2,27 min.

Preparación 17

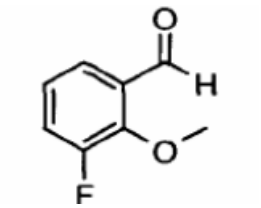
Éster *terc*-butílico del ácido *trans*-2-((*S*)-7-ciano-2-isopropoxicarbonilamino-2,3-dihidro-1H-ciclopenta[b]indol-4-ilmetil)-3-hidroxi-3-metilpirrolidina-1-carboxílico



Una mezcla del éster isopropílico del ácido ((*S*)-7-ciano-1,2,3,4-tetrahidro-ciclopenta[b]indol-2-il)-carbámico (2,00 g, 7,06 mmol), éster *terc*-butílico del ácido trans-3-hidroxi-2-metanosulfoniloximetil-3-metil-pirrolidina-1-carboxílico (3,28 g, 10,59 mmol), carbonato de cesio (5,11 g, 15,53 mmol) , y yoduro de potasio (118 mg, 705,9 µmol) en dimetilformamida (40 ml) se agitó en un baño de aceite a 60º C durante 48 h en una atmósfera de argón. La suspensión resultante se enfrió a temperatura ambiente y se diluyó con acetato de etilo (120 ml), a continuación se lavó con agua (3 X 100 ml) y salmuera. La porción orgánica se secó con sulfato de sodio, se filtró, y se concentró hasta sequedad. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía líquida a media presión, eluyendo con acetato de etilo:hexano (1:1). Las fracciones que contenían el producto puro se combinaron y se concentraron para dar como resultado 2,5 g (71 %) del compuesto del título. LC-ES/MS *m/z* 519,2 $[M+Na]^+$, T_R = 3,77, 3,81 min.

Preparación 18

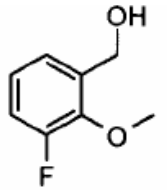
3-Fluoro-2-metoxi-benzaldehído



Una mezcla de 3-fluorosalicilaldehído (3,52 g, 25,12 mmol) y carbonato de cesio (20,46 g, 62,81 mmol) en N,N-dimetilformamida (30 ml) se trató con yodometano (3,13 ml, 50,2 mmol) y se agitó a temperatura ambiente con nitrógeno durante 2 h. La mezcla de reacción se diluyó con dietil éter (150 ml) y se lavó con ácido clorhídrico 0,5 M (2 X 150 ml). La porción orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró, y se concentró para dar como resultado 3,42 g (88 %) del compuesto del título como un aceite transparente. RMN ^1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,59 (d, 1H), 7,32 (dd, 1H), 7,04 (m, 1H), 4,04 (s, 3H).

Preparación 19

(3-Fluoro-2-metoxifenil)metanol

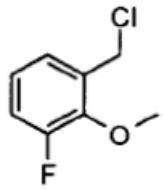


A una solución de 3-fluoro-2-metooxi-benzaldehído (3,41 g, 22,1 mmol) en metanol (20 ml) se añadió lentamente borohidruro de sodio (1,00 g, 26,6 mmol) en porciones. La reacción se agitó a temperatura ambiente con nitrógeno

durante la noche. La reacción se diluyó con dietil éter, se lavó con agua dos veces, se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró, y se concentró para dar como resultado 3,02 g (87 %) del compuesto del título como un aceite incoloro trasparente. RMN ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,09-6,92 (m, 3H), 4,65 (d, 2H), 3,97 (s, 3H), 2,14 (t, 1H, OH).

Preparación 20

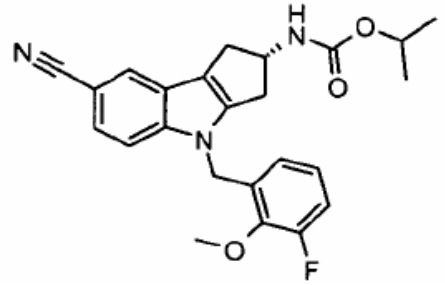
1-(clorometil)-3-fluoro-2-metoxibenceno



Una solución del (3-fluoro-2-metoxifenil)metanol (3,02 g, 19,3 mmol) y trietilamina (6,74 ml, 48,4 mmol) en diclorometano (20 ml) se trató con cloruro de metanosulfonilo (2,99 ml, 38,7 mmol) lentamente a temperatura ambiente y se agitó con nitrógeno durante 3 h. A continuación la reacción se diluyó con dietil éter, se lavó con ácido clorhídrico 0,5 M dos veces, se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró, y se concentró para dar como resultado el compuesto del título como un aceite de color amarillo (2,71 g, 80 %). RMN ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,15-6,93 (m, 3H), 4,61 (s, 2H), 4,00 (s, 3H).

Preparación 21

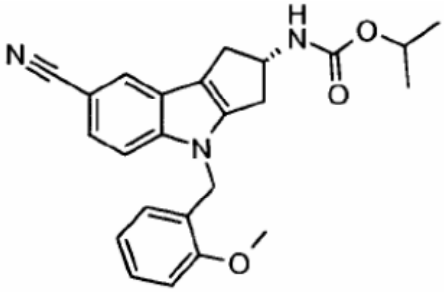
Éster isopropílico del ácido (*S*)-7-ciano-4-(3-fluoro-2-metoxibencil)-1,2,3,4-tetrahidrociclopenta[b]indol-2-ilcarbámico



Una solución del éster isopropílico del ácido (S)-7-ciano-1,2,3,4-tetrahidrociclopenta[b]indol-2-ilcarbámico (1,50 g, 5,29 mmol) y 1-(clorometil)-3-fluoro-2-metoxbenceno (1,11 g, 6,35 mmol) en N, N-dimetilformamida (10 ml) se trató con carbonato de cesio (2,59 g, 7,94 mmol) a temperatura ambiente y se agitó durante la noche con nitrógeno. La mezcla de reacción se diluyó con agua y éter/hexanos. Los sólidos de color blanco que quedaban fuera de la solución se filtraron, se enjuagaron con agua, éter, hexanos, y se secaron a vacío a 50º C durante 48 h para obtener el compuesto del título como un sólido de color blanco (2,18 g, 98 %). LC-ES/MS *m/z* 422.2 $[M+H]^+$, T_R = 4,57 min.

Preparación 22

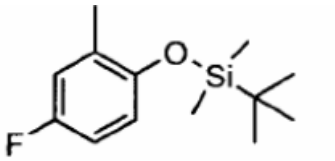
Éster isopropílico del ácido [(*S*)-7-ciano-4-(2-metoxi-bencil)-1,2,3,4-tetrahidro-ciclopenta[b]indol-2-il]-carbámico



Una mezcla del éster isopropílico del ácido ((*S*)-7-ciano-1,2,3,4-tetrahidro-ciclopenta[b]indol-2-il)-carbámico (2,0 g, 7,06 mmol) y carbonato de cesio (3,22 g, 9,88 mmol) en DMF (40 ml) se trató con cloruro de metoxibencilo (1,16 g, 7,41 mmol). La reacción se calentó a 50º C durante 18 h. La reacción se enfrió a temperatura ambiente y se diluyó con agua (300 ml). El sólido de color blanco se recogió y se lavó con agua. El sólido se secó en un horno a vacío a 40º C. Tras el secado, se obtuvieron 2,80 g (98 %) de producto como un sólido de color blanco. LC-ES/MS *m/z* 404 $[M+H]^+$, T_R = 2,83 min.

Preparación 23

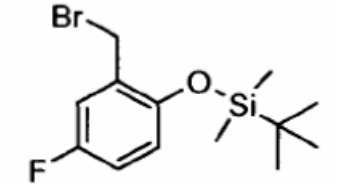
terc-Butil-(4-fluoro-2-metil-fenoxi)-dimetil-silano,



Se combinó t-butildimetilclorosilano (14,34 g, 93,24 mmol) con 4-fluoro-2-metilfenol (10,00 g, 77,70 mmol) y 1H-imidazol (13,32 g, 194,24 mmol) en dimetilformamida (100 ml) y se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La reacción se diluyó con éter (200 ml) y se lavó con agua (2 X 100 ml) y salmuera. La porción orgánica se secó con sulfato de sodio, se filtró, y se concentró para dar como resultado 18,9 g (100 %) del compuesto del título. GC-ES *m/z* 240 $[M]^+$, T_R = 4,06 min.

Preparación 24

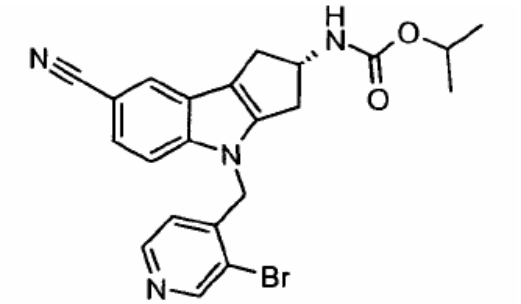
(2-Bromometil-4-fluoro-fenoxi)-*terc*-butil-dimetil-silano



Una mezcla del *terc*-butil-(4-fluoro-2-metil-bencil)-dimetil-silano (6,20 g, 25,79 mmol) y N-bromosuccinimida (4,75 g, 26,31 mmol) en tetracloruro de carbono (50 ml) se mantuvo a reflujo en un baño de aceite a 90º C durante 10 min y se trató con peróxido de benzoílo (64 mg, 258 µmol). La suspensión resultante se mantuvo a reflujo durante 2 h y se enfrió a temperatura ambiente. El sólido se eliminó mediante filtración y el filtrado se concentró a vacío. El residuo resultante se cargó en un cartucho ReadySep® (25 g) y se eluyó con hexano (300 ml) para dar 6,4 g (78 %) del compuesto del título como un aceite trasparente. GC-ES *m/z* (^{79}Br) 318 $[M]^+$, T_R = 5,06 min.

Preparación 25

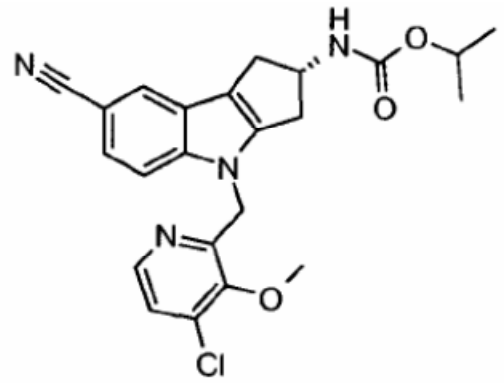
Éster isopropílico del ácido (*S*)-4-((3-bromopiridin-4-il)metil)-7-ciano-1,2,3,4-tetrahidrociclopenta[b]indol-2-ilcarbámico



Una mezcla de la 3-bromo-4-(clorometil)piridina (3,16 g, 11,5 mmol), éster isopropílico del ácido ((*S*)-7-ciano-1,2,3,4-tetrahidro-ciclopenta[b]indol-2-il)-carbámico 82,50 g, 8,82 mmol) y carbonato de cesio (4,31 g, 13,2 mmol) en dimetilformamida (20 ml9 se agitó a temperatura ambiente con nitrógeno durante la noche. A continuación la mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo, diclorometano, y agua. Se separó la fase orgánica, se lavó con agua dos veces, se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró, y se concentró a vacío para obtener un aceite de color marrón (~4,75 g). El aceite se trituró con hexanos dos veces, a continuación con éter dos veces. A continuación se purificó mediante cromatografía instantánea eluyendo con 30 a 60 % de acetato de etilo / hexanos para obtener un sólido de color crema (3,23 g, 81 %). LC-ES/MS *m/z* (^{79}Br/^{81}Br) 453,0/455,0 $[M+H]^+$.

Preparación 26

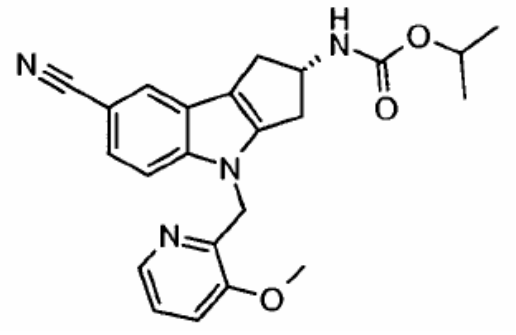
Éster isopropílico del ácido (*S*)-4-((4-cloro-3-metoxipiridin-2-il)metil)-7-ciano-1,2,3,4-tetrahidrociclopenta[b]indol-2-ilcarbámico



A una solución del (*S*)-isopropil 7-ciano-1,2,3,4-tetrahidrociclopenta[b]indol-2-ilcarbamato (680 mg, 2,40 mmol) y 4-cloro-2-(clorometil)-3-metoxipiridina (553 mg, 2,88 mmol) en dimetilformamida (5 ml) se añadió carbonato de cesio (1,17 g, 3,60 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se diluyó con agua y se filtró el sólido de color beige. Se enjuagó con agua y a continuación se secó en un horno a vacío a 50º C durante 48 h para obtener un sólido de color gris (970, 92 %). LC-ES/MS *m/z* 439,0 $[M+H]^+$.

Preparación 27

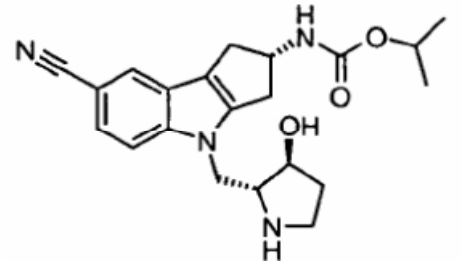
Éster isopropílico del ácido (*S*)-4-((3-metooxipiridin-2-il)metil)-7-ciano-1,2,3,4-tetrahidrociclopenta[b]indol-2-ilcarbámico



Una mezcla del (*S*)-isopropil 4-((4-cloro-3-metoxipiridin-2-il)metil)-7-ciano-1,2,3,4-tetrahidrociclopenta[b]indol-2-ilcarbamato (12,53 g, 28,55 mmol) y paladio sobre carbono al 10 %(1,00 g) en metanol (150 ml) se hidrogenó a 50 psi (344,74 kPa) a temperatura ambiente. Un lote reciente de paladio sobre carbono al 10 % (1,2 g) se suspendió en agua (~2 ml) y se añadió a la mezcla de reacción, que se hidrogenó (50 psi; 344,74 kPa) a temperatura ambiente durante la noche. El catalizador se eliminó mediante filtración y la solución se concentró a presión reducida para obtener un sólido de color amarillo pálido. El sólido se trituró con éter dos veces y se secó a vacío elevado para dar como resultado un sólido de color amarillo (10,80 g, 94 %). LC-ES/MS *m/z* 405,2 $[M+H]^+$

Ejemplo 1

Éster isopropílico del ácido [(*S*)-7-ciano-4-((2*R*,3*S*)-3-hidroxi-pirrolidin-2-ilmetil)-1,2,3,4-tetrahydro-ciclopenta[b]indol-2-il]-carbámico

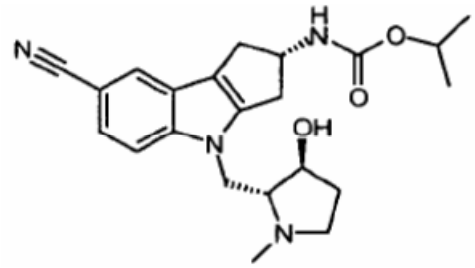


A una solución del éster *terc*-butílico del ácido (2*R*,3*S*)-2-((*S*)-7-ciano-2-isopropoxicarbonilamino-2,3-dihidro-1H-

ciclopenta[b]indol-4-ilmetil)-3-hidroxi-pirrolidina-1-carboxílico (0,50 g, 1,04 mmol) en metanol (20 ml) se trató con cloruro de hidrógeno 4 N en 1,4-dioxano (20 ml), se agitó a temperatura ambiente durante 3 h y se concentró. El residuo se suspendió en acetato de etilo (200 ml) y se trató con solución acuosa de hidróxido de sodio 2 N (20 ml). La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó con sulfato de sodio, y se concentró. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía líquida a media presión, eluyendo con metanol:cloroformo (5:95). Las fracciones que contenían el producto puro se combinaron y se concentraron para dar como resultado 0,38 g (96 %) del compuesto del título. LC-ES/MS/MS *m/z* 383,2 $[M+H]^+$, T_R = 1,86 min.

Ejemplo 2

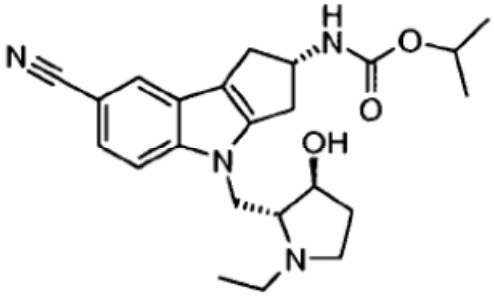
Éster isopropílico del ácido [(*S*)-7-ciano-4-((2*R*,3*S*)-3-hidroxi-1-metil-pirrolidin-2-ilmetil)-1,2,3,4-tetrahidro-ciclopenta[b]indol-2-il]-carbámico



Una solución del éster *terc*-butílico del ácido (2*R*,3*S*)-2-((*S*)-7-ciano-2-isopropoxicarbonilamino-2,3-dihidro-1H-ciclopenta[b]indol-4-ilmetil)-3-hidroxi-pirrolidina-1-carboxílico (3,10 g, 6,42 mmol) en etanol (20 ml) se trató con cloruro de hidrógeno 4 N en 1,4-dioxano (20 ml) y se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. la solución resultante se concentró a vacío y se suspendió en acetato de etilo (200 ml) y se trató con disolución acuosa de hidróxido de sodio 2 N (70 ml). La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó con sulfato de sodio, y se concentró. El residuo resultante se disolvió en cloroformo (100 ml) y se trató con formaldehído (1,45 ml, 19,27 mmol) y triacetoxiborohidruro de sodio (4,25 g, 19,27 mmol). La suspensión resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La suspensión se trató con solución saturada de bicarbonato de sodio (40 ml) y se agitó durante 30 min. La suspensión resultante se diluyó con diclorometano (100 ml) y se lavó con agua (3 X 100 ml) y salmuera. La porción orgánica se secó con sulfato de sodio, se filtró, y se concentró hasta sequedad. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía líquida a media presión, eluyendo con metanol:cloroformo (5:95). Las fracciones que contenían el producto puro se combinaron y se concentraron para dar como resultado 1,6 g (63 %) del compuesto del título. LC-ES/MS *m/z* 397,2 $[M+H]^+$, T_R = 1,78 min.

Ejemplo 3

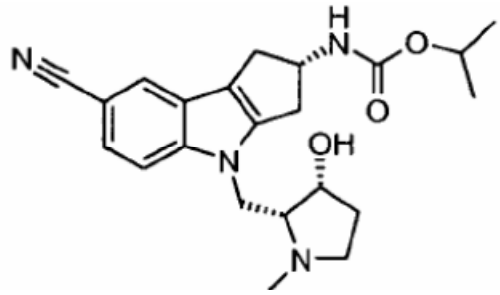
Éster isopropílico del ácido [(S)-7-ciano-4-((2*R*,3*S*)-3-hidroxi-1-etil-pirrolidin-2-ilmetil)-1,2,3,4-tetrahidro-ciclopenta[b]indol-2-il]-carbámico



Una solución del éster isopropílico del ácido [(*S*)-7-ciano-4-((2*R*,3*S*)-3-hidroxi-pirrolidin-2-ilmetil)-1,2,3,4-tetrahidro-ciclopenta[b]indol-2-il]-carbámico (300 mg, 784,4 mmol) en acetonitrilo (20 ml) se trató con acetaldehído (1,0 ml, 17,80 mmol) y triacetoxiborohidruro de sodio (520 mg, 2,35 mmol) y se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La suspensión se trató con solución saturada de bicarbonato de sodio (40 ml) y se agitó durante 30 min. La suspensión resultante se diluyó con diclorometano (100 ml) y se lavó con agua (3 X 100 ml) y salmuera. La porción orgánica se secó con sulfato de sodio, se filtró, y se concentró hasta sequedad. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía líquida a media presión, eluyendo con metanol:cloroformo (5:95). Las fracciones que contenían el producto puro se combinaron y se concentraron para dar como resultado 0,1 g (31 %) del compuesto del título. LC-ES/MS *m/z* 144,2 $[M+H]^+$, T_R = 1,94 min.

Ejemplo 4

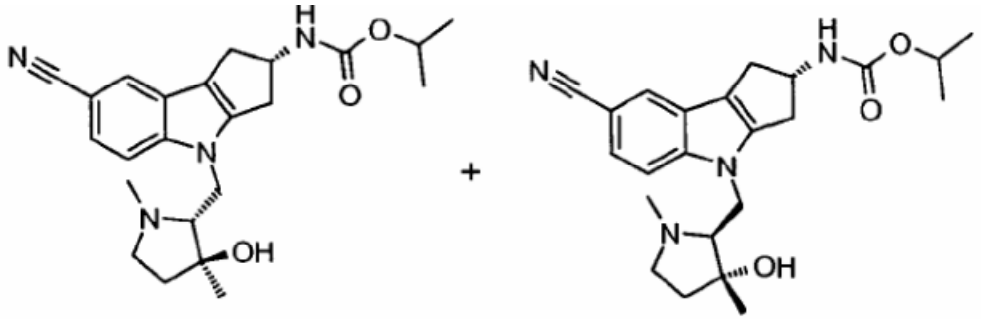
Éster isopropílico del ácido [(*S*)-7-ciano-4-((2*R*,3*R*)-3-hidroxi-1-metill-pirrolidin-2-ilmetil)-1,2,3,4-tetrahidro-ciclopenta[b]indol-2-il]-carbámico



Una solución de la sal de clorhidrato del éster isopropílico del ácido [(*S*)-7-ciano-4-((2*R*,3*R*)-3-hidroxi-pirrolidin-2-ilmetil)-1,2,3,4-tetrahidro-ciclopenta[b]indol-2-il]-carbámico (380 mg, 907,1 mmol) en acetonitrilo (50 ml) se trató con metanol (5 ml) hasta que la mayor parte del sólido se disolvió y a continuación se trató con formaldehído (136,3 µl, 1,81 mmol) y triacetoxiborohidruro de sodio (400,5 mg, 1,81 mmol). La reacción se agitó durante 30 min. la mezcla se diluyó con acetato de etilo (120 ml) y la suspensión resultante se lavó con agua (3 X 100 ml) y salmuera. La porción orgánica se secó con sulfato de sodio, se filtró, y se concentró hasta sequedad. El residuo se purificó mediante cromatografía líquida a media presión, eluyendo con metanol:cloroformo (5:95). Las fracciones que contenían el producto puro se combinaron y se concentraron para dar como resultado 0,2 g (61 %) del compuesto del título. LC-ES/MS *m/z* 397,2 $[M+H]^+$, T_R = 1,87 min.

Ejemplo 5

Éster isopropílico del ácido [(*S*)-7-ciano-4-(trans-3-hidroxi-1-metil-3-methyl-pirrolidin-2-ilmetil)-1,2,3,4-tetrahidro-ciclopenta[b]indol-2-il]-carbámico (racémico)



Una mezcla del éster *terc*-butílico del ácido *trans*-2-((*S*)-7-ciano-2-isopropoxicarbonilamino-2,3-dihidro-1H-ciclopenta[b]indol-4-ilmetil)-3-hidroxi-3-metil-pirrolidina-1-carboxílico (2,50 g, 5,03 mmol) en 1,4-dioxano (15 ml) y metanol (2 ml) se trató con cloruro de hidrógeno 4 N en 1,4-dioxano (15 ml) y se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. La reacción se convirtió en una suspensión sólida de color blanco con una solución rojiza. La suspensión se concentró y el residuo se suspendió en acetonitrilo (30 ml) y se trató con una solución acuosa de formaldehído al 30 % (1,13 ml, 15,10 mmol) y triacetoxiborohidruro de sodio (3,33 g, 15,10 mmol). La suspensión resultante se agitó durante la noche. Se trató la suspensión con solución saturada acuosa de bicarbonato de sodio y se agitó durante 30 min. La suspensión se diluyó con acetato de etilo (120 ml) y se lavó con agua (3 X 100 ml) y salmuera. Se secó la porción orgánica con sulfato de sodio, se filtró y se concentró hasta sequedad. El residuo se purificó mediante cromatografía líquida de media presión, eluyendo con acetato de etilo:hexano (1:1). Las fracciones que contenían el producto puro se combinaron y se concentraron para dar como resultado 1,75 g (84 %) del compuesto del título. LC-ES/MS *m/z* 411,2 $[M+H]^+$, T_R = 1,96 min.

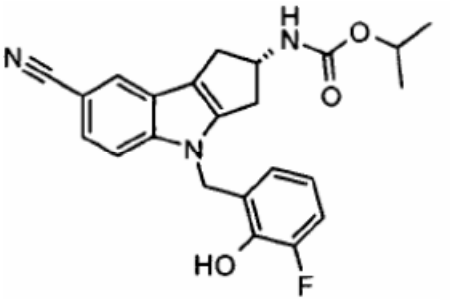
Ejemplo 6 y 7

Isómero 1 e isómero 2 del éster isopropílico del ácido [(S)-7-ciano-4-(*trans*-3-hidroxi-l-metil-3-metil-pirrolidin-2-ilmetil)-1,2,3,4-tetrahidro-ciclopenta[b]indol-2-il]-carbámico

El éster isopropílico del ácido [(*S*)-7-ciano-4-(*trans*-3-hidroxi-1-metil-3-metil-pyrrolidin-2-ilmetil)-1,2,3,4-tetrahidro-ciclopenta[b]indol-2-il]-carbámico (racémico) (2,15 g, 5,24 mmol) se separó con una columna chiralpak® AD-H, 4,6 3 150 mm, eluyendo 1 ml/min con acetonitrilo:metanol:dimetiletilamina (30:70:0,2), detectando a 225 nm. Se recogió el pico nº 1 desde 2,0 minutos a 2,5 minutos y el pico nº 2 desde 4,0 minutos a 7,0 minutos. Las fracciones que contenían el producto puro se combinaron y se concentraron para dar como resultado 0,926 g (43 %) del isómero 1 y 0,822 g (38 %) del isómero 2.

Ejemplo 8

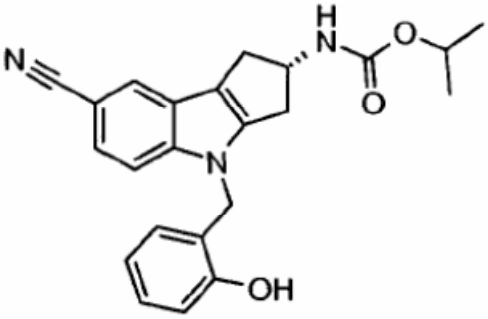
Éster isopropílico del ácido [(*S*)-7-ciano-4-(3-fluoro-2-hidroxibencil)-1,2,3,4-tetrahidrociclopenta[b]indol-2-i]-carbámico



A una solución del (*S*)-isopropil 7-ciano-4-(3-fluoro-2-metoxibencil)-1,2,3,4-tetrahidrociclopenta[b]indol-2-ilcarbamato (1,88 g, 4,46 mmol) en diclorometano (50 ml) se añadió tribromuro de boro 1 M en diclorometano (13,4 ml, 13,4 mmol) a 0º C y se agitó durante la noche. La reacción se detuvo rápidamente con un poco de acetonitrilo húmedo. Se eliminaron los compuestos volátiles a presión reducida y el residuo se secó a vacío elevado. A continuación se purificó mediante cromatografía en columna con acetato de etilo al 5 % en cloroformo para obtener un sólido de color amarillo. El sólido se suspendió en una cantidad mínima de diclorometano y se dejó sedimentar a temperatura ambiente. Los sólidos de color blanco se separaron. Se filtraron y se enjuagaron de forma breve con diclorometano. El licor madre se concentró y el procedimiento se repitió con el residuo tres veces. Los sólidos de color blanco se combinaron para dar como resultado el compuesto del título (1,17 g, 64 %). LC-ES *m/z* 408,2 $[M+H]^+$, T_R = 4,08 min.

Ejemplo 9

Éster isopropílico del ácido [(*S*)-7-ciano-4-(2-hidroxi-bencil)-1,2,3,4-tetrahidro-ciclopenta[b]indol-2-il]-carbámico

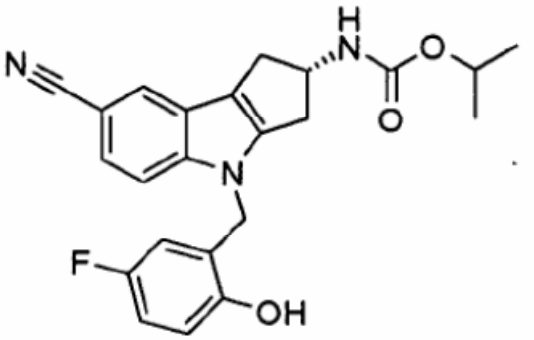


A una solución a 0º C del éster isopropílico del ácido [(S)-7-ciano-4-(2-metoxi-bencil)-1,2,3,4-tetrahidro-ciclopenta[b]indol-2-il]-carbámico (1,50 g, 3,72 mmol) en diclorometano (37 ml) se añadió BBr_3 (1,0 M en diclorometano, 11.2 ml, 11,2 mmol). La reacción se dejó calentar hasta la temperatura ambiente y se agitó durante 18 h. La reacción se detuvo rápidamente con solución saturada acuosa de NH_4Cl. Se añadió agua (70 ml) y se extrajo el producto bruto con diclorometano (75 ml) y EtOAc (2 X 75 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron con Na_2SO_4, se filtraron, y se concentraron. El producto bruto se purificó en gel de sílice (40 g, EtOAc/hexanos al 30 %) y a continuación se volvió a purificar en gel de sílice (40 g, acetonitrilo/diclorometano al 5 %) para dar 1,00 g de producto que tiene una pureza aproximada del 90 %.

La reacción se repitió sobre 1,77 g (4,38 mmol) y se elaboró de la misma manera. El producto bruto se combinó con el producto con una pureza del 90 % a partir del ciclo previo, y el producto combinado se purificó sobre gel de sílice (240 g, 2:33:65 de MeOH/diclorometano/hexanos) para dar 991 mg (rendimiento combinado del 37 % para las dos reacciones) del compuesto del título como un sólido de color blanco. RMN ^1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,70 (s, 1H), 7,33 (d, J= 8,8 Hz, 1H), 7,27-7,23 (m, 1H), 7,12-7,08 (m, 1H), 6,79-6,71 (m, 3H), 6,14-6,11 (m, 1H), 5,19 (s, 2H), 5,05-4,97 (m, 1H), 4,93-4,80 (m, 2H), 3,30-3,23 (m, 2H), 2,69-2,62 (m, 2H), 1,21 (t, J= 5,9 Hz, 6H).

Ejemplo 10

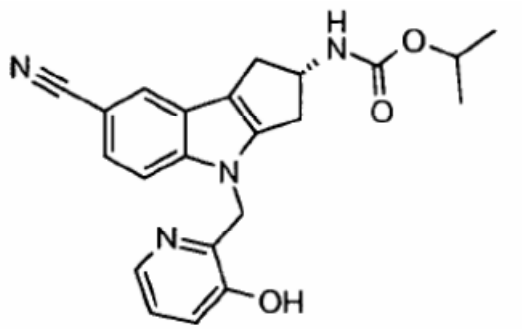
Éster isopropílico del ácido [(S)-7-ciano-4-(5-fluoro-2-hidroxi-bencil)-1,2,3,4-tetrahidro-ciclopenta[b]indol-2-il] carbámico



Una mezcla del éster isopropílico del ácido ((*S*)-7-ciano-1,2,3,4-tetrahidro-ciclopenta[b]indol-2-il)-carbámico (1,15 g, 4,06 mmol) y carbonato de cesio (1,60 g, 4,87 mmol) en dimetilformamida (15 ml) se agitó a -40º C (baño de hielo seco) durante 30 min y se trató (2-bromometil-4-fluoro-fenoxi)-*terc*-butil-dimetil-silano (1,56 g, 4,87 mmol). La reacción se agitó a -40º C (baño de hielo seco) durante 5 h y se calentó a temperatura ambiente durante 6 h. La suspensión resultante se diluyó con acetato de etilo (120 ml) y se lavó con agua (3 X 100 ml) y salmuera. La porción orgánica se secó con sulfato de sodio, se filtró, y se concentró hasta sequedad. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía líquida a media presión eluyendo con acetato de etilo: hexano (1:1). Las fracciones que contenían el producto puro se combinaron y se concentraron para dar como resultado 0,6 g del material protegido con sililo. Se disolvió en tetrahidrofurano (10 ml) y se añadió solución de fluoruro de tetrabutilamonio (1 M, 5 ml) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó durante una hora y se concentró. El residuo se diluyó con acetato de etilo (100 ml) y se lavó con agua y salmuera. La porción orgánica se secó con sulfato de sodio, y se concentró. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía líquida a media presión, eluyendo con acetonitrilo:diclorometano (8:02). Las fracciones que contenían el producto puro se combinaron y se concentraron. Se obtuvo un sólido de color blanco y se recristalizó con acetonitrilo para dar 0,35 g (21 %) del compuesto del título. LC-ES *m/z* 408,2 $[M+H]^+$, T_R = 4,09 min.

Ejemplo 12

Éster isopropílico del ácido (*S*)-7-ciano-4-((3-hidroxipiridin-2-il)metil)-1,2,3,4-tetrahidrociclopenta[b]indol-2-ilcarbámico



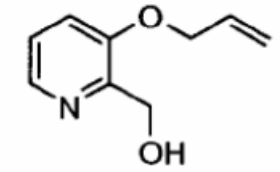
El éster isopropílico del ácido (*S*)-4-((3-metoxipiridin-2-il)metil)-7-ciano-1,2,3,4-tetrahidrociclopenta[b]indol-2-ilcarbámico (4,59 g, 11,4 mmol) y clorhidrato de piridina (21,0 g, 182 mmol) se mezclaron con un agitador magnético en un recipiente de 75 ml cerrado herméticamente, que se sumergió en un baño de aceite precalentado (170º C). Los sólidos se fundieron en aproximadamente 30 s y se agitaron durante 60 min. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente, se transfirió a otro matraz, y se disolvió en tetrahidrofurano (100 ml) y agua (100 ml). Se añadió carbonato de potasio (40 g) lentamente en porciones y después de agitar durante 5 min, se añadió una solución de cloroformiato de isopropilo en tolueno (34,0 ml, 34,0 mmol) a temperatura ambiente. Una porción del solvente se eliminó a presión reducida y el residuo se diluyó con diclorometano y acetato de etilo. El residuo insoluble de color marrón se eliminó mediante filtración y las fases se separaron. La fase orgánica se lavó con carbonato de potasio al 10 % una vez, se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró *a vacío* para obtener una espuma de color marrón. La espuma se disolvió en metanol (20 ml), se añadió hidróxido de sodio 2 M (10 ml) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. El solvente se eliminó a presión reducida. El residuo se disolvió en $HCl/EtOAc/CHCl_3$ 0,5 M y la bicapa se filtró. A continuación se acidificó hasta un pH de 7-8 con carbonato de potasio al 5 %. Se separaron las fases y la fase orgánica se lavó con carbonato de potasio al 5 % una vez, se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró, y se concentró *a vacío* para obtener una espuma de color naranja. La espuma se

purificó mediante cromatografía instantánea en gel de sílice eluyendo con 10 a 40 % de acetato de etilo / cloroformo para obtener un sólido de color rojo (3,33 g). El sólido se disolvió en hidróxido de sodio 0,5 M (30 ml). La capa acuosa se lavó con diclorometano dos veces y se descartaron las capas orgánicas. La capa acuosa se ajustó a un pH de 5-5 con ácido clorhídrico 5 M. Un sólido de color blanquecino/amarillo se separó de la solución. Se ajustó el pH a 8-9 con carbonato de potasio, se recogió el sólido de color amarillo mediante filtración y se secó al aire durante una hora. A continuación se suspendió en una cantidad mínima de acetonitrilo, se filtró, y se enjuagó con una cantidad mínima de acetonitrilo. Se concentró el licor madre y se repitió el procedimiento dos veces para dar como resultado un polvo de color blanco, que se secó a vacío elevado durante la noche para obtener el compuesto del título como un sólido de color blanco. (1,45 g, 33 %). LC-ES/MS *m/z* 391,2 $[M+H]^+$, T^R = 3,32 min.

Síntesis alternativa del Ejemplo 12

Preparación 27

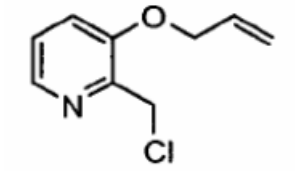
(3-Aliloxi-piridin-2-il)-metanol



El clorhidrato de hidroxi-2-(hidroximetil)piridina (50 g, 339,6 mmol) y el metanol (250 ml) se combinaron con nitrógeno y se enfriaron a 22º C. a la mezcla agitada vigorosamente se añadió metóxido de sodio 4,5 M en MeOH (170,8 ml, 747,2 mmol). Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 2 h y a continuación se evaporó el solvente. El material resultante se disolvió en DMSO (250 ml), se añadió bromuro de alilo (41 g, 339,6 mmoles), y la mezcla se agitó durante 18 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se añadió a agua (800 ml) y se extrajo con cloruro de metileno (3 X 80 ml). Se combinaron las porciones orgánicas y s secaron con sulfato de sodio, se filtraron, y se evaporó el solvente para dar como resultado el compuesto del título (34,4 g, 62 %). LC-ES/MS *m/z* 166,1 $[M+H]^+$.

Preparación 28

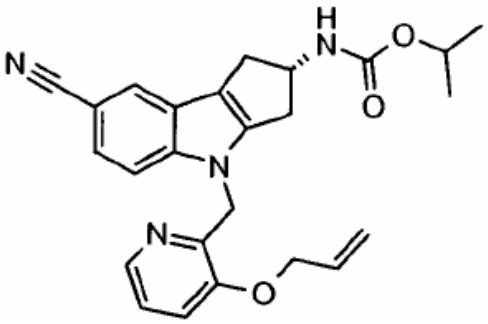
3-Aliloxi-2-clorometil-piridina



El (3-aliloxi-piridin-2-il)-metanol (34 g, 205,8 mmol) se disolvió en diclorometano (340 ml) con nitrógeno y se añadió trietilamina (34,4 ml, 247 mmol) a 22º C. La mezcla se calentó a temperatura ambiente en un baño de agua y se añadió cloruro de metanosulfonilo (16,7 ml, 216 mmol) manteniendo la temperatura por debajo de 30º C. La reacción se dejó agitar durante la noche a temperatura ambiente. Se añadió agua (500 ml) y se agitó la mezcla durante 10 min. La porción orgánica se separó y se lavó con una solución de $NaHCO_3$ saturado (140 ml). La porción orgánica se secó con sulfato de sodio, se filtró, y se evaporó el solvente. El residuo resultante se secó a vacío hasta peso constante para dar como resultado el compuesto del título (29 g, 79 %). LC-ES/MS *m/z*: 184,6 $[M+H]^+$.

Preparación 29

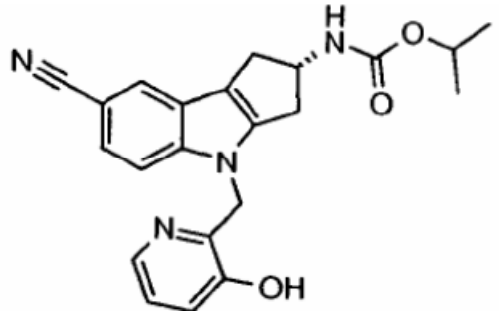
Éster isopropílico del ácido [(*S*)-4-(3-Aliloxi-piridin-2-ilmetil)-7-ciano-1,2,3,4-tetrahidro-ciclopenta[b]indol-2-il]-carbámico



El éster isopropílico del ácido ((S)-7-ciano-1,2,3,4-tetrahidro-ciclopenta[b]indol-2-il)-carbámico (25 g, 88,2 mmol) se disolvió en dimetilformamida (150 ml) con nitrógeno. Se añadieron carbonato de cesio (57,5 g, 176,5 mmol) y 3-aliloxi-2-clorometil-piridina (16,2 g, 88,2 mmol) secuencialmente. La mezcla de reacción se agitó a 40º C durante 16 h. La reacción se enfrió a temperatura ambiente y se añadió a agua (1250 ml). Después de una hora de agitación se filtró un sólido de color crema pálida. El material bruto se purificó mediante recristalización en i-PrOH y a continuación se secó a vacío hasta un peso constante para dar como resultado el compuesto del título (32 g, 84 %). LC-ES/MS *m/z*: 431,2 $[M+H]^+$.

Ejemplo 12a

Éster isopropílico del ácido [(*S*)-7-ciano-4-(3-hidroxi-piridin-2-ilmetil)-1,2,3,4-tetrahidro-ciclopenta[b]indol-2-il]-carbámico



Se combinaron el éster isopropílico del ácido [(*S*)-4-(3-aliloxi-piridin-2-ilmetil)-7-ciano-1,2,3,4-tetrahidro-ciclopenta[b]indol-2-il]-carbámico (40 g, 87,3 mmol) y 1-4 dioxano (400 ml) y la mezcla se desgasificó burbujeando nitrógeno durante una hora. A continuación se añadieron trietilamina (24,4 ml, 174,7 mmol) y ácido fórmico (6,60 ml, 174,7) y la mezcla se calentó con nitrógeno a 80º C. Se añadió tetrakis(trifenilfosfina)paladio (1,02 g, 0,87 mmol) manteniendo simultáneamente la atmósfera de nitrógeno. La reacción se calentó a 80º C durante 3 h y a continuación se enfrió a temperatura ambiente. La reacción se filtró a través de una almohadilla de tierra de diatomeas El filtrado se evaporó y el material bruto se secó a vacío para dar como resultado un sólido de color marrón. El sólido se disolvió en NMP (100 ml) y a continuación se añadió a agua (1,2 l). Se recogió mediante filtración un sólido de color crema pálida que se secó durante la noche a vacío para dar como resultado 41 g del material bruto. El material se purificó mediante recristalización en acetonitrilo y a continuación se secó a vacío hasta peso constante para dar como resultado el compuesto del título (29,5 g, 86 %). LC-ES/MS *m/z*: 391.1 $[M+H]^+$.

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Eli Lilly and Company

<120> TETRAHIDROCICLOPENTA[b]INDOLES COMO MODULADORES DEL RECEPTOR DE ANDRÓGENOS

<130> X-17700

<160> 3

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1
<211> 17
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 1
ccggaaccct tgcgttt 17

<210> 2
<211> 22
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 2

cagactgtgg gcttcagagt ca 22

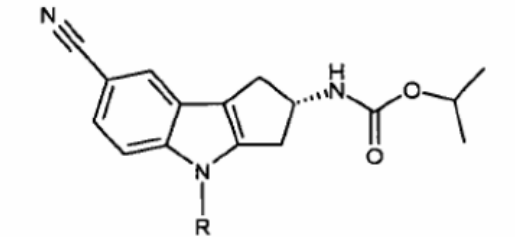
<210> 3
<211> 14
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 3
cccgtaaagg gcct 14

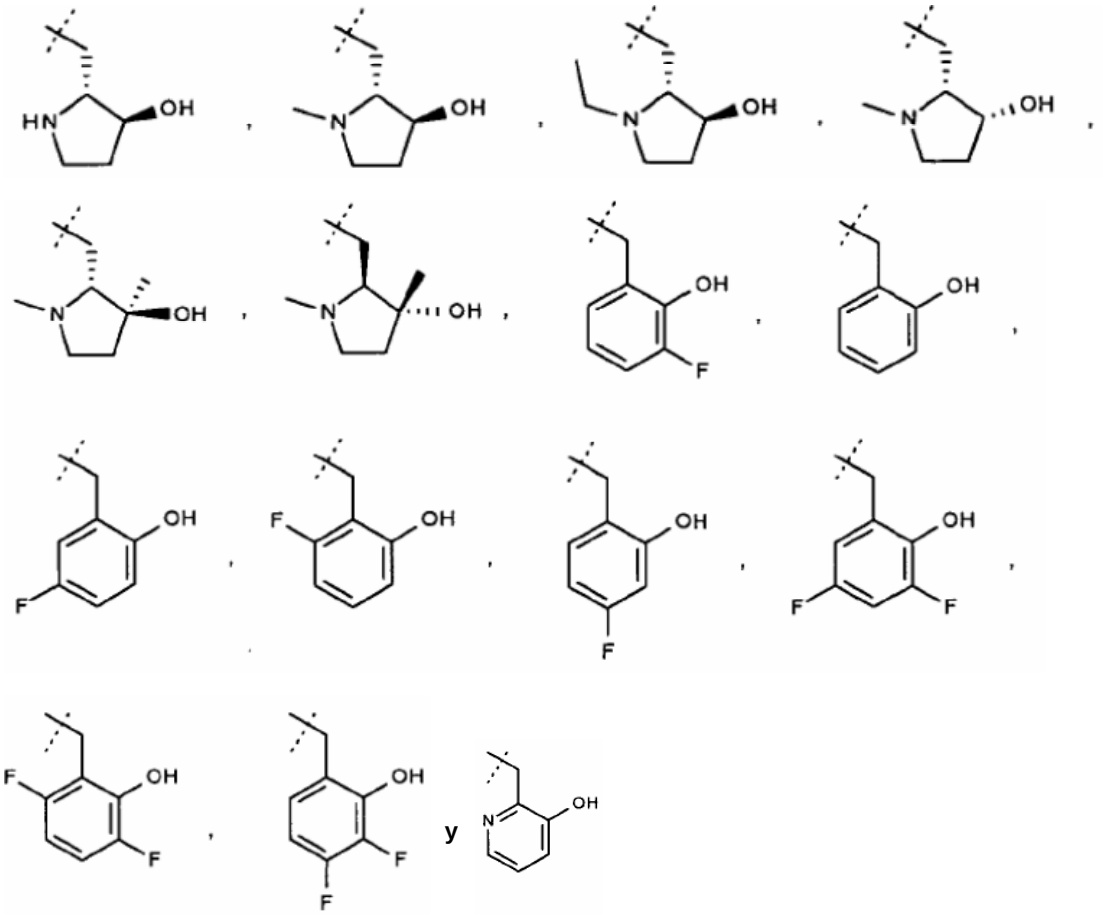
REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I):



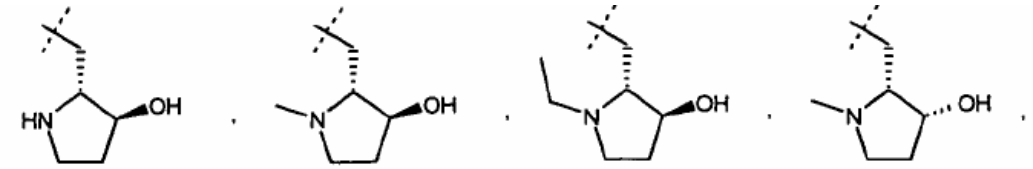
Fórmula (I)

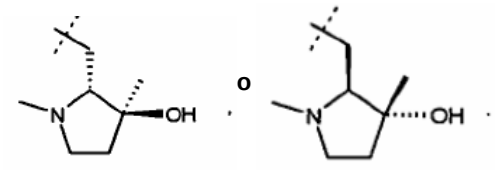
en la que
R representa un sustituyente seleccionado entre el grupo que consiste en



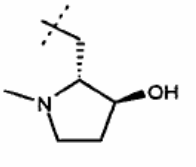
o una de sus sales farmacéuticamente aceptables

2. El compuesto o la sal de acuerdo con la Reivindicación 1 en la que R representa

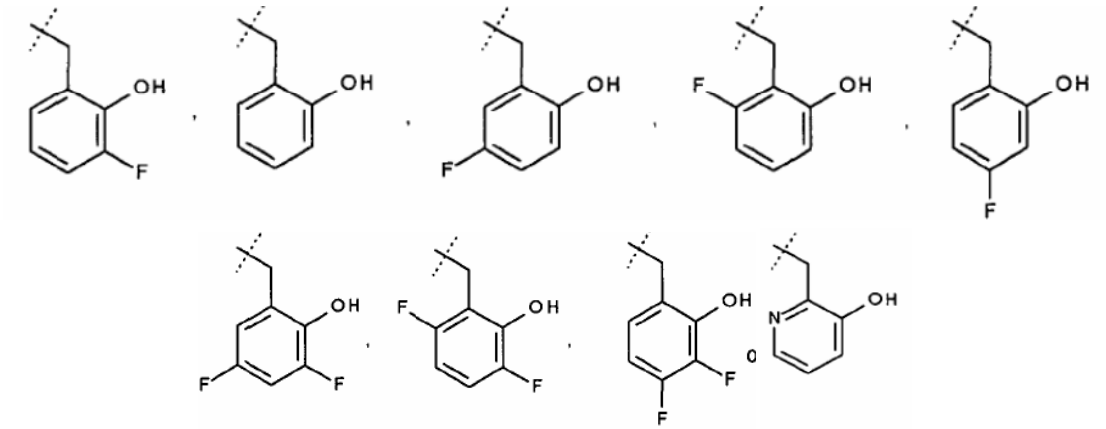




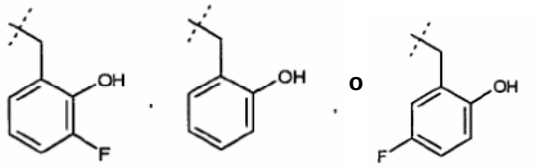
3. El compuesto o la sal de acuerdo con la Reivindicación 2 en la que R representa



4. El compuesto o la sal de acuerdo con la Reivindicación 1 en la que R representa



5. El compuesto o la sal de acuerdo con la Reivindicación 4 en la que R representa



6. Un compuesto de acuerdo con la Reivindicación 1 seleccionado entre el grupo que consiste en el éster isopropílico del ácido [(*S*)-7-ciano-4-((2*R*,3*S*)-3-hidroxi-1-metil-pirrolidin-2-ilmetil)-1,2,3,4-tetrahidro-ciclopenta[b]indol-2-il]-carbámico, el éster isopropílico del ácido [(*S*)-7-ciano-4-(3-fluoro-2-hidroxibencil)-1,2,3,4-tetrahidrociclopenta[b]indol-2-i]-carbámico, el éster isopropílico del ácido [(*S*)-7-ciano-4-(2-hidroxyibencil)-1,2,3,4-tetrahidro-ciclopenta[b]indol-2-il]-carbámico, y el éster isopropílico del ácido [(*S*)-7-ciano-4-(5-fluoro-2-hidroxi-bencil)-1,2,3,4-tetrahidro-ciclopenta[b]indol-2-il] carbámico, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

7. Un compuesto o la sal de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 1-6 para su uso en terapia.

8. Un compuesto o sal de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 1-6 para su uso en el tratamiento o la prevención de la reducción de la masa o la densidad ósea, osteoporosis, osteopenia, reducción de la masa o la fuerza muscular, o la disfunción eréctil.

9. El compuesto o la sal para uso de acuerdo con la Reivindicación 8 para tratar o evitar la disfunción eréctil.

10 Una composición farmacéutica que comprende un compuesto o la sal de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 1-6 en combinación con uno o más vehículos, diluyentes, o excipientes farmacéuticamente aceptables.

11. La composición de acuerdo con la Reivindicación 10 que comprende además un compuesto seleccionado entre el grupo que consiste en tadalafilo, citrato de sildenafilo, y clorhidrato de vardenafilo.