

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 398 388**

51 Int. Cl.:

C07D 401/12 (2006.01)

C07D 207/38 (2006.01)

A61K 31/4025 (2006.01)

A61P 25/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.10.2007 E 07871196 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.12.2012 EP 2099784**

54 Título: **1,5-Difenil-3-piridinilamino-1,5-dihidropirrolidin-2-onas como moduladores del receptor CB1**

30 Prioridad:

23.10.2006 US 862540 P

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

15.03.2013

73 Titular/es:

**ELI LILLY & COMPANY (100.0%)
LILLY CORPORATE CENTER
INDIANAPOLIS, IN 46285, US**

72 Inventor/es:

**SCHAUS, JOHN MEHNERT y
HEATH, PERRY CLARK**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 398 388 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).

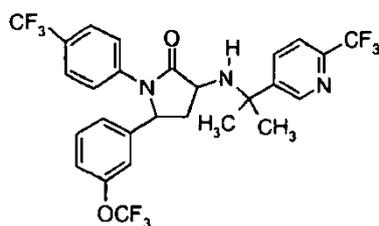
DESCRIPCIÓN

1,5-Difenil-3-piridinilamino-1,5-dihidropirrolidin-2-onas como moduladores del receptor CB₁

- La familia del receptor CB₁ se encuentra principalmente en los sistemas nerviosos central y periférico y en menor medida en varios órganos periféricos. El receptor CB₂ se encuentra principalmente en el sistema inmunitario. Se ha hecho una recapitulación de la farmacología y del potencial terapéutico de los ligandos de los receptores de cannabinoides (Exp. Opin. Ther. Patents 1998, 8, 301-313; Ann. Rep. Med. Chem., A. Doherty, Ed.; Academic Press, NY 1999, vol. 34, 199-208; Exp. Opin. Ther. 2000, 10, 1529-1538; Trends in Pharma. Sci. 2000, 21, 218-224). Los agonistas del receptor CB₁ se han asociado con la estimulación de la alimentación, las propiedades aneméticas, la analgesia, la reducción de la presión intraocular en el glaucoma y el alivio de espasmos musculares en la esclerosis múltiple. A la inversa, los antagonistas del receptor CB₁ se han mostrado eficaces para la reducción de la alimentación y el peso corporal en modelos animales de obesidad. Sin embargo, la mayoría de los compuestos que modulan la actividad del receptor CB₁ tienen la propiedad farmacológica del agonismo inverso que reduce la transducción de la señal del receptor CB₁ basal, así como la actividad de bloqueo de la estimulación del receptor dependiente del agonista de CB₁.
- Un número selectivo de compuestos receptor CB₁ de acción central están actualmente en desarrollo para el tratamiento de la obesidad. Sin embargo, todavía sigue existiendo una necesidad de compuestos receptores CB₁ que tengan una mayor potencia in vivo, que sean de bajo peso molecular y tengan propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas que proporcionen beneficio terapéutico a la vez que se minimizan los efectos adversos. Véase, por ejemplo el documento WO 2007/020502.
- Además de los trastornos de la apetencia, se ha demostrado que los agonistas inversos de CB₁ potencian aún más la actividad de los agentes antipsicóticos en ensayos. Aunque las actuales terapias antipsicóticas son más o menos eficaces para controlar los síntomas positivos, tales terapias no son tan eficaces en el tratamiento de los síntomas negativos y cognitivos, haciendo que muchos pacientes sean incapaces de llevar una vida normal. Datos convergentes sugieren que los fármacos que mejoran la activación neuronal en áreas específicas del cerebro, áreas del hipocampo, cuerpo estriado y cortical en particular, serían eficaces en el tratamiento tanto de los síntomas negativos como cognitivos. Además, los efectos de la pérdida de peso de los compuestos receptor CB₁ se han demostrado en modelos animales de aumento de peso inducido por el tratamiento antipsicótico y, por lo tanto, también pueden ser eficaces en el control del aumento de peso emergente durante el tratamiento y el síndrome metabólico observados con las terapias antipsicóticas actuales.
- Además, se ha demostrado que los compuestos receptor CB₁ reducen el consumo de alcohol en modelos animales de ingesta de alcohol y, por lo tanto, pueden ser útiles en el tratamiento de la drogadicción.
- Aunque la administración oral es una vía preferida de administración de fármacos, muchos compuestos receptor CB₁ presentan una mala biodisponibilidad oral como consecuencia de su limitada solubilidad en medios acuosos y su labilidad metabólica. Debido a la alta lipofilia de los ligandos cannabinoides endógenos y el sitio complementario al que se unen en el receptor CB₁, los compuestos receptor CB₁ también son altamente lipófilos. Esta alta lipofilia conduce a una mala solubilidad en medios acuosos, lo que limita la absorción oral y la biodisponibilidad. Véase, por ejemplo el documento WO 2007/020502.
- Además, los compuestos que son rápidamente metabolizados por el hígado pueden sufrir conversión metabólica después de la absorción en el intestino delgado y antes de alcanzar la circulación general. Durante este proceso, puede formarse un intermedio(s) metabólico reactivo que posteriormente puede reaccionar con otros nucleófilos en el cuerpo (tales como proteínas, ADN, ARN, etc.) Esto podría conducir a problemas de toxicidad. Este denominado "efecto de primer paso" también limita la biodisponibilidad del fármaco. Véase, por ejemplo el documento WO 2007/020502.
- En conclusión, hay una necesidad de compuestos receptor CB₁ que tengan una buena biodisponibilidad, una mayor potencia in vivo, sean altamente selectivos sobre CB₂, sean más fácilmente solubles que las moléculas anteriores y no formen metabolitos reactivos que posteriormente puedan provocar problemas de toxicidad. La presente invención satisface esta necesidad y proporciona ventajas relacionadas.

Sumario de la invención

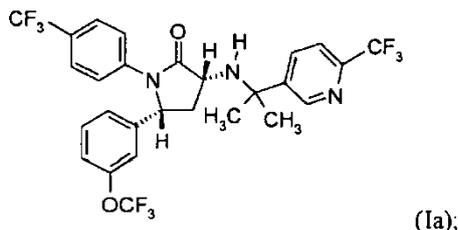
En la presente memoria se describe un compuesto de Fórmula (I)



(I)

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

La presente invención proporciona un compuesto de Fórmula (Ia)



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 5 La presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con la Fórmula (Ia) y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

En otra realización, la presente invención proporciona la composición farmacéutica en la que el compuesto de Fórmula (Ia) está presente en una pureza óptica mayor que 90% ee.

- 10 En otra realización más, la composición farmacéutica en la que el compuesto de Fórmula (Ia) está presente en una pureza óptica mayor que 95% ee.

Una realización de la presente invención proporciona un compuesto de acuerdo con la Fórmula (Ia) para su uso en terapia.

- 15 La presente invención proporciona un compuesto de acuerdo con la Fórmula (Ia) para su uso en el tratamiento de un trastorno seleccionado de: un trastorno de la alimentación asociado con la ingesta excesiva de alimentos, la obesidad y la esquizofrenia. También se divulga en la presente memoria un compuesto de acuerdo con la Fórmula (Ia) para su uso en el tratamiento de un trastorno seleccionado de deterioro cognitivo asociado con la esquizofrenia, la drogadicción o dependencia del alcohol, dejar de fumar y el aumento de peso emergente durante el tratamiento observado durante el tratamiento con un antipsicótico atípico.

- 20 La presente invención proporciona el uso de un compuesto de acuerdo con la Fórmula (Ia) en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de un trastorno seleccionado de: un trastorno de la alimentación asociado con la ingesta excesiva de alimentos, la obesidad y la esquizofrenia. También se divulga en la presente memoria el uso de un compuesto de acuerdo con la fórmula (1a) en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de un trastorno seleccionado de deterioro cognitivo asociado con la esquizofrenia, drogadicción o dependencia del alcohol, dejar de fumar y el aumento de peso emergente durante el tratamiento observado durante el tratamiento con un antipsicótico atípico.

- 25 Una realización de la invención proporciona un compuesto de acuerdo con la Fórmula (Ia), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de una dolencia en un mamífero que se puede tratar mediante un bloqueo de los receptores CB₁ a través de un mecanismo de agonismo inverso.

- 30 Una realización de la invención proporciona un compuesto de acuerdo con la Fórmula (Ia), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en combinación simultánea, separada o secuencial con un agente antipsicótico en el tratamiento de una dolencia en un mamífero.

En una realización, la dolencia es un trastorno de la alimentación asociado con la ingesta excesiva de alimentos.

En una realización, la dolencia es la obesidad.

En una realización, la dolencia es la esquizofrenia.

- 35 También como se divulga en la presente memoria, la dolencia es el deterioro cognitivo asociado con esquizofrenia.

También como se divulga en la presente memoria, la dolencia es la drogadicción o la dependencia del alcohol.

También como se divulga en la presente memoria, la dolencia es dejar de fumar.

También como se divulga en la presente memoria, la dolencia es el aumento de peso emergente durante el tratamiento observado durante el dejar de fumar.

- 40 Una realización de la invención proporciona un compuesto de acuerdo con la Fórmula (Ia) para su uso en combinación simultánea, separada o secuencial con un agente antipsicótico en el tratamiento de un trastorno seleccionado de: aumento de peso, obesidad y esquizofrenia. También se divulga en la presente memoria un compuesto de acuerdo con la Fórmula (1a) para su uso en combinación simultánea, separada o secuencial con un

agente antipsicótico en el tratamiento de un trastorno seleccionado de: deterioro cognitivo asociado con la esquizofrenia, drogadicción o dependencia del alcohol, dejar de fumar y aumento de peso emergente durante el tratamiento observado durante el tratamiento con un antipsicótico atípico.

5 En otra realización más, la invención proporciona el uso de un compuesto de acuerdo con la Fórmula (I) en la fabricación de un medicamento para su uso en terapia de combinación para el tratamiento de un trastorno seleccionado de: aumento de peso, obesidad y esquizofrenia, donde dicho medicamento se ha de administrar en combinación simultánea, separada o secuencial con un agente antipsicótico. También se divulga en la presente memoria el uso de un compuesto de acuerdo con la Fórmula (I) en la fabricación de un medicamento para su uso en terapia de combinación para el tratamiento de un trastorno seleccionado de: deterioro cognitivo asociado con la esquizofrenia, drogadicción o dependencia del alcohol, dejar de fumar y aumento de peso emergente durante el tratamiento observado durante el tratamiento con un antipsicótico atípico, donde dicho medicamento se ha de administrar en combinación simultánea, separada o secuencial con un agente antipsicótico.

10 La presente invención proporciona un compuesto de acuerdo con la Fórmula (Ia), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en combinación simultánea, separada o secuencial con un agente antipsicótico en el tratamiento de una dolencia en un mamífero que se puede tratar mediante un bloqueo de los receptores CB₁ a través de un mecanismo de agonismo inverso.

15 La presente invención proporciona un compuesto de acuerdo con la Fórmula (Ia), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de una dolencia en un mamífero.

En una realización, la dolencia es la esquizofrenia.

20 En una realización, la dolencia es el aumento de peso.

En una realización, la dolencia es la obesidad.

También como se divulga en la presente memoria, la dolencia es el deterioro cognitivo asociado con esquizofrenia.

También como se divulga en la presente memoria, la dolencia es la drogadicción o la dependencia del alcohol.

También como se divulga en la presente memoria, la dolencia es dejar de fumar.

25 También como se divulga en la presente memoria, la dolencia es el aumento de peso emergente durante el tratamiento observado durante el tratamiento con un agente antipsicótico.

Un aspecto preferido de la presente invención proporciona compuestos de Fórmula (Ia) que son enantiómeros sustancialmente puros. Como tal, cada una de las siguientes clases específicas de compuestos de Fórmula (Ia) se contemplan como aspectos de la presente invención:

- 30 (a) Aquellos en los que las purezas enantioméricas son mayores que 80% de exceso enantiomérico;
 (b) Aquellos en los que las purezas enantioméricas son mayores que 90% de exceso enantiomérico;
 (c) Aquellos en los que las purezas enantioméricas son mayores que 95% de exceso enantiomérico y
 (d) Aquellos en los que las purezas enantioméricas son mayores que 99% de exceso enantiomérico.

35 Estos compuestos enantioméricamente puros se pueden preparar mediante la purificación del enantiómero deseado de un compuesto de Fórmula (I) a partir de una mezcla de enantiómeros de este compuesto. El enantiómero deseado de un compuesto de Fórmula (I) también se puede preparar mediante síntesis de acuerdo con los siguientes esquemas generales mediante el uso de precursores que son sustancialmente enantioméricamente puros. Los expertos en la técnica reconocerán que, o bien la resolución de los compuestos finales o de los intermedios proporcionarán los compuestos de Fórmula (I) en forma sustancialmente enantioméricamente pura, para producir, por ejemplo, los compuestos de Fórmula (Ia) y emplearán el método que sea más conveniente.

40 Se sabe además que un diastereoisómero sustancialmente puro se puede aislar de una mezcla de diastereoisómeros usando métodos conocidos en la técnica. Los métodos de purificación de diastereoisómeros incluyen cromatografía y cristalización. Una mezcla de enantiómeros se puede separar en los enantiómeros individuales sustancialmente puros mediante el proceso conocido como resolución. Los enantiómeros se pueden resolver mediante el uso de cromatografía utilizando una fase estacionaria quirál. Las fases sólidas quirales adecuadas incluyen fases estacionarias a base de polisacáridos, tales como Chiralpak AD y Chiracel OJ (vendido por Chiral Technologies, Inc.). Además, los enantiómeros de compuestos básicos se pueden resolver mediante la conversión de una mezcla de sales diastereoisómeras por tratamiento con un ácido quirál. La sal diastereoisómera deseada se aísla mediante, por ejemplo, cristalización. El compuesto básico sustancialmente enantioméricamente puro puede aislarse por tratamiento con una base. Ejemplos de ácidos quirales incluyen (-)-ácido tartárico, (+)-tartárico, (-)-ácido mandélico, (+)-ácido mandélico, (-)-ácido ditoluoiltartárico y (+)-ácido ditoluoiltartárico. Los enantiómeros de los compuestos ácidos se pueden resolver de una manera análoga utilizando una base sustancialmente enantioméricamente pura. Ejemplos de tales bases incluyen R-alfa-metilbencilamina, S-alfa-metilbencilamina y brucina. Otro método para la resolución de una mezcla racémica implica la reacción con un

- reactivo quiral sustancialmente enantioméricamente puro (denominado aquí como un auxiliar quiral) para formar un enlace covalente. Esta reacción da lugar a una mezcla de diastereoisómeros, que se purifica de acuerdo con métodos conocidos en la técnica. Todo, o una parte, del auxiliar quiral se puede escindir a continuación de la molécula para generar un compuesto que es sustancialmente enantioméricamente puro. En algunos casos, el centro asimétrico introducido por el auxiliar quiral puede conservarse en el producto final.
- 5
- Un experto en la técnica reconocerá que ciertos compuestos intermedios divulgados pueden existir con diferentes puntos de unión de hidrógeno y, por lo tanto, considerarse tautómeros. Los tautómeros individuales, así como mezclas de los mismos se contemplan como un aspecto de la presente invención. Cada una de las formas del tautómero puede existir, interconvertirse y someterse a la tautomerización en las condiciones especificadas.
- 10
- Se entenderá que, como se usa en la presente memoria, a menos que se indique otra cosa, las referencias a los compuestos de Fórmulas (I) o (Ia) se entiende que incluyen también las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.
- Se entenderá que los compuestos de la presente invención divulgados a continuación pueden existir como formas cristalinas diferentes preparadas por cristalización en condiciones controladas.
- 15
- Los compuestos de Fórmulas (I) o (Ia) son selectivos para el receptor CB₁ con preferencia al receptor CB₂. Además, hay datos que sugieren que estos ligandos del receptor CB₁ actúan como antagonistas de la función del receptor CB₁ y tienen también propiedades de agonistas inversos. Por lo tanto, se puede afirmar que los compuestos de Fórmula (Ia) son moduladores del receptor CB₁ y como tales son útiles para la prevención y el tratamiento de dolencias asociadas con el receptor CB₁. Dichas dolencias incluyen, por ejemplo, déficit de memoria, trastornos cognitivos, síntomas negativos de esquizofrenia, trastornos de drogadicción (particularmente a opiáceos, alcohol y nicotina), obesidad, trastornos metabólicos y trastornos de la alimentación asociados con una ingesta excesiva de alimentos. Véase DSM-IV-TR, Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales. Revisado, 4^a ed., Revisión del texto (2000). Véase también DSM-IV, Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales 4^a Ed., (1994). El DSM-IV y DSM-IV-TR fueron preparados por el Grupo de Trabajo de Nomenclatura y Estadística de la Asociación Americana de Psiquiatría y proporciona descripciones de las categorías diagnósticas. El experto en la técnica reconocerá que hay nomenclaturas, nosologías y sistemas de clasificación alternativos para los trastornos psicológicos patológicos y que estos sistemas evolucionan con el progreso científico médico.
- 20
- 25
- Los compuestos de Fórmula (Ia) también se pueden utilizar para mejorar el aumento de peso, independientemente de si el sujeto que sufre el aumento de peso asociado se puede clasificar como clínicamente obeso.
- 30
- Una cantidad eficaz de los compuestos de Fórmula (Ia) se puede administrar a un paciente en necesidad de tal tratamiento o profilaxis. La necesidad de una administración profiláctica de acuerdo con la presente invención se determina mediante el uso de factores de riesgo bien conocidos. La cantidad eficaz de un compuesto individual la determina, en el análisis final, el médico a cargo del caso, pero depende de factores tales como la enfermedad exacta a tratar, la gravedad de la enfermedad y otras enfermedades o dolencias que sufra el paciente, la vía de administración elegida, otros fármacos y tratamientos concomitantes que pueda necesitar el paciente y otros factores a juicio del médico. La dosis profiláctica o terapéutica de un compuesto de Fórmula (Ia) variará, por supuesto, con la naturaleza de la gravedad de la dolencia a tratar y con el compuesto particular de Fórmula (Ia) y su vía de administración.
- 35
- 40
- La dosis se puede administrar en una única dosis diaria o la dosis diaria total puede administrarse en dosis divididas de dos, tres o cuatro veces al día. Además, basándose en las propiedades del compuesto individual seleccionado para la administración y/o las características de la forma farmacéutica (es decir, de liberación modificada), la dosis se puede administrar menos frecuentemente, por ejemplo, semanalmente, dos veces a la semana, semanalmente, mensualmente, etc. La dosis unitaria puede ser correspondientemente mayor para la administración menos frecuente. Cuando se administra por vía transdérmica o a través de una solución intravenosa continua, la administración de la dosis será, por supuesto, continua en lugar de intermitente a lo largo de la pauta posológica.
- 45

Descripción detallada

Como se usa anteriormente y en toda la descripción de la invención, los siguientes términos, a menos que se indique otra cosa, se definen como sigue:

- 5 "Agonista" y "agonistas" se refiere a aquellos compuestos que estimulan la respuesta funcional de un receptor.
 "Antagonista neutro" y "antagonistas neutros" se refiere a aquellos compuestos que no alteran la actividad basal de un receptor, pero bloquean la actividad funcional de los agonistas y agonistas inversos devolviendo la respuesta funcional a la del estado basal.
 "Agonista inverso" y "agonistas inversos" se refiere a aquellos compuestos que poseen actividad intrínseca negativa por inversión de la actividad constitutiva del receptor. Los agonistas inversos actúan como antagonistas invirtiendo la actividad de los agonistas.
 10 "Antagonista" o "antagonistas" se refiere a aquellos compuestos que son antagonistas neutros.
 "Obesidad" se refiere a la condición de tener una alta cantidad de grasa corporal. Una persona se considera obesa si tiene un índice de masa corporal (IMC) de 30 kg/m² o mayor. Una persona con un IMC = 27-30 se considera generalmente como una persona con sobrepeso. Convencionalmente, las personas con peso normal tienen un IMC de 19,9 a 25,9. La obesidad puede ser debida a cualquier causa, ya sea genética o ambiental. Ejemplos de trastornos que pueden resultar en obesidad o ser la causa de la obesidad incluyen exceso de ingesta de alimentos, disminución de la actividad física y dolencias patológicas asociadas a una actividad metabólica reducida.
 15 "Sales farmacéuticamente aceptables" y "sales" se refiere a las sales de adición de ácido inorgánicas y orgánicas relativamente no tóxicas y a las sales de adición de base, de los compuestos de la presente invención. Véase, por ejemplo SM Berge, et al., "Pharmaceutical Salts", J. Pharm. Sci., 66, 1-19 (1977).
 "Composición farmacéutica" y "composición" se pretende que abarque un producto que comprende el principio activo, preferiblemente presente en cantidades farmacéuticamente eficaces y el componente(s) inerte (excipientes farmacéuticamente aceptables) que constituyen el vehículo, así como cualquier producto que resulte, directa o indirectamente, de la combinación, complejación o agregación de cualquiera de dos o más de los componentes, o de la disociación de uno o más de los componentes, o de otros tipos de reacciones o interacciones de uno o más de los componentes. Por consiguiente, las composiciones farmacéuticas de la presente invención abarcan cualquier composición fabricada mezclando un compuesto de Fórmula (Ia) y cualquier excipiente farmacéuticamente aceptable.
 20 "Prevención" (de la obesidad) se refiere a la prevención de la ocurrencia de la obesidad si el tratamiento se administra antes de la aparición de la condición obesa. Por otra parte, si el tratamiento se comienza en sujetos ya obesos, tal tratamiento se espera que evite, o prevenga la progresión de, las secuelas médicas de la obesidad (por ejemplo, arteriosclerosis, diabetes tipo II, enfermedad del ovario poliquístico, enfermedades cardiovasculares, artrosis, trastornos dermatológicos, hipertensión, resistencia a la insulina, hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia y colelitiasis).
 25 "Tratar", como se usa en la presente memoria, a menos que se indique otra cosa, significa invertir, aliviar, inhibir el progreso de, o prevenir el trastorno o dolencia al que se aplica dicho término, o uno o más síntomas de tal trastorno o dolencia. El término "tratamiento" como se utiliza en la presente memoria, a menos que se indique otra cosa, se refiere al acto de tratamiento como se acaba de definir inmediatamente antes el término "tratar".
 30 "po", como se usa en la presente memoria, a menos que se indique otra cosa, significa por vía oral.
 "sc" como se usa en la presente memoria, a menos que se indique otra cosa significa subcutánea.
 "Ret." tal como se utiliza en la presente memoria, a menos que se indique otra cosa, significa retención.
 35 "DMSO", como se usa en la presente memoria, a menos que se indique otra cosa, significa dimetilsulfóxido.

- 45 Para la utilidad terapéutica enseñada en la presente memoria, la sal de los compuestos reivindicados debe ser farmacéuticamente aceptable. Para más detalles sobre las sales farmacéuticamente aceptables, véase Journal of Pharmaceutical Science, 66, 1 (1977).

Preparaciones y Ejemplos

Condiciones para los métodos de HPLC referidos a lo largo de las Preparaciones y Ejemplos:

Método A

- 50 Columna LC: Zorbax Eclipse XDB C8 4,6 X 150 mm 5 µM
 Gradiente: 20-90% de acetonitrilo con/0,01% de ácido trifluoroacético en 13,0 minutos
 Temperatura de la columna: 40°C
 Temperatura de inyector automático: ambiente
 Caudal: 2,0 ml/minuto
 55 Señal detectada en las longitudes de onda de 260 y 215 nm.

Método B

Columna LC: Zorbax SB-fenil 4,6 x 150 mm 5 µm
 Isocrático: 36% de A y 64% de B, donde A = NH₄OAc 0,05 M en agua (pH 5,0) y B = ACN durante 10 minutos.

Temperatura de la columna: 35°C
 Temperatura del inyector automático: ambiente
 Caudal: 2,0 ml/minuto
 Señal detectada en longitud de onda de 206 nm.

5 Método C

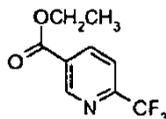
Columna LC: Zorbax RX-C18 4,6 x 250 mm 5 µm
 Gradiente: acetonitrilo 50-90% con/tampón fosfato 0,03 M (tampón fosfato = 5,52 g NaH₂PO₄ y 1,4 ml de H₃PO₄ en 2 l de H₂O Milli-Q) en 15 minutos.
 Temperatura de la columna: 40°C
 Temperatura del inyector automático: ambiente
 Caudal: 1,5 ml/minuto
 Señal detectada en longitud de onda de 260 nm.

Método D

Columna LC: Phenomenex Gemini C₁₈ 2,0 x 50 mm 3,0 µm
 Gradiente: 5-100% ACN ACN con/0,1% de ácido fórmico en 7,0 min., después se mantuvo al 100% durante 1,0 min.
 Temperatura de la columna: 50°C +/- 10°C
 Temperatura del inyector automático: ambiente
 Caudal: 1,0 ml/min.
 Señal detectada en longitud de onda de 300 nm.
 EM (m/z): 402 (M-1).

Preparación A

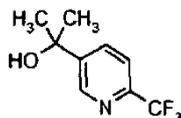
Éster etílico del ácido 6-trifluorometil-nicotínico



25 Preparar el compuesto del título mediante el procedimiento descrito en la patente alemana titulada "Preparation of 6-(haloalkyl)-3-pyridinecarboxylic acids". Mueller, Peter. (Bayer A.-G., Alemania). Sol. Pat. Eur. (2003), 13 pp. EP 1340747 A1 20030903. RMN de ¹H (DMSO-d₆, 500 MHz): δ 9,19 (s, 1 H), 8,53 (dd, 1 H, J = 1,5, 8,5), 8,04 (d, 1 H, J = 8), 4,38 (c, 2H, J = 7), 1,34 (t, 3H, J = 7).

Preparación B

30 2-(6-Trifluorometil-piridin-3-il)-propan-2-ol



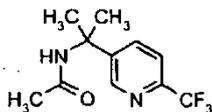
Enfriar el contenido de un recipiente de reacción inerte que contiene éster etílico del ácido 6-trifluorometil-nicotínico de grado técnico (45,6 moles; 10,00 kg) y *tert*-butil metil éter (71,6 l; 53,0 kg) a 10-15°C y añadir la solución a un recipiente de reacción inerte separado enfriado a 5-12°C que contiene cloruro de metilmagnesio 3 M (136,8 moles; 45,6 l; 46,2 kg) y tetrahidrofurano (76,5 l; 68,0 kg). Observar una moderada exotermia durante la adición y mantener la temperatura interna de la reacción entre 15-25°C. Confirmar que el éster de partida se consume completamente por HPLC y enfriar el contenido del reactor a 0-3°C. Añadir el contenido del recipiente de reacción lentamente a un reactor separado enfriado a 0-5°C que contiene ácido clorhídrico (203 moles; 16,67 l; 20,0 kg) y agua (81,0 l, 81,0 kg) y observar el desprendimiento de gas. Separar las capas y extraer la fase acuosa una vez con *tert*-butil metil éter (59,5 l; 44,0 kg). Combinar las capas orgánicas y lavar con una solución de cloruro sódico al 20% (189,3 moles; 46,5 l; 55,3 kg). Filtrar la solución orgánica, concentrar hasta aproximadamente 1 volumen y diluir con acetonitrilo (31,8 l; 25,0 kg). Concentrar la solución hasta aproximadamente 1 volumen para proporcionar el compuesto del título como un aceite de grado técnico (7,9 kg; 84,4%, basado en HPLC) en acetonitrilo. Utilizar el material bruto en forma de una solución en acetonitrilo sin purificación adicional. Una muestra pura del producto puede obtenerse por el procedimiento indicado a continuación.

Purificación (opcional): Cargar el compuesto del título (1,81 kg, 8,82 moles) en un embudo de decantación de 22 l con metil t-butil éter (3 l 2,2 Kg), agua (500 ml) y bicarbonato sódico acuoso saturado (500 ml) y agitar durante 10 minutos. Separar la capa acuosa de color amarillo brillante y transferir la fase orgánica a un matraz de 22 l. Añadir sulfato de magnesio (200 g, 1,66 moles) al matraz, agitar 10 minutos y después filtrar. Concentrar el filtrado hasta

obtener un aceite y co-evaporar dos veces con acetonitrilo (2 x 3 l) para dar el compuesto del título como un aceite que pesa 1,64 kg (90,6%). RMN de ^1H (DMSO- d_6 , 500 MHz): δ 8,85 (d, 1 H, $J = 2,5$ Hz), 8,10 (dd, 1 H, $J = 2,8$ Hz), 7,81 (d, 1 H, $J = 8$ Hz), 5,42 (s, 1 H), 1,47 (s, 6 H).

Preparación C

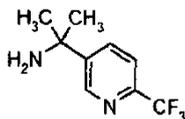
5 N-[1-Metil-1-(6-trifluorometil-piridin-3-il)-etil]-acetamida



- Añadir acetonitrilo (67,4 l; 53,0 kg) a un recipiente de reacción que contiene 2-(6-trifluorometil-piridin-3-il)-propan-2-ol (52 moles; 12,8 kg) y enfriar a 0-5°C. Añadir ácido sulfúrico concentrado (372 moles; 19,8 l; 36,5 kg) lentamente, manteniendo la temperatura interna de la reacción entre 0-15°C. Calentar la solución a 25-30°C durante 24 horas y observar la finalización de la reacción por HPLC. Enfriar la mezcla a 0°C mientras se agita y añadir agua (95,0 l; 95,0 kg). Añadir una solución de amoníaco acuoso (57,5 kg) para ajustar el pH de la solución a 8,0-9,0 y a continuación añadir *tert*-butil metil éter (81,1 l; 60,0 kg). Separar la capa acuosa inferior, concentrar la capa orgánica hasta aproximadamente 3 volúmenes y enfriar el contenido de la reacción a -5-0°C. Filtrar los sólidos resultantes y secar al vacío hasta constancia de peso y recoger (13,4 kg; 87,3%, basado en HPLC) del compuesto del título como un sólido amarillo pálido con 81,8% de pureza. RMN de ^1H (DMSO- d_6 , 500 MHz): δ 8,68 (d, 1 H, $J = 2$ Hz), 8,30 (s, 1 H), 7,92 (dd, 1 H, $J = 2,5, 8,5$ Hz), 7,79 (d, 1 H, $J = 5,8$ Hz), 1,82 (s, 3 H), 1,56 (s, 6 H).

Preparación D

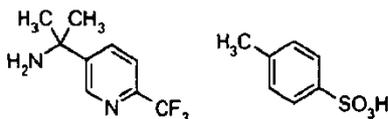
1-Metil-1-(6-trifluorometil-piridin-3-il)-etilamina



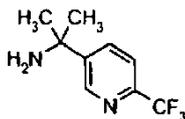
- Calentar una mezcla de N-[1-metil-1-(6-trifluorometil-piridin-3-il)-etil]-acetamida (93,5 moles, 19,1 kg), ácido clorhídrico concentrado (805,9 moles; 66,2 l; 79,4 kg) y agua (79,4 l; 79,4 kg) a 95-100°C con agitación en atmósfera de nitrógeno durante 24 horas. Enfriar la mezcla de reacción a 20-35°C y observar la finalización de la reacción por HPLC. Enfriar el recipiente de reacción a 10-20°C y añadir *tert*-butil metil éter (105,4 l; 78,0 kg). Separar las fases y desechar la fase orgánica. Añadir hidróxido sódico 15% (910,9 moles; 205 l; 242,9 kg) a la fase acuosa y observar un pH de 9,5-10,5. Extraer la capa acuosa con acetato de etilo (3 x 89 ml; 3 x 80,0 kg), combinar las capas orgánicas y eliminar la fase acuosa. Concentrar la solución a aproximadamente 2 volúmenes, añadir *tert*-butil metil éter (174 l; 129,1 kg) y concentrar la solución hasta aproximadamente 2 volúmenes. Diluir el recipiente de reacción con *n*-heptano (168 l; 115,0 kg), concentrar la solución hasta aproximadamente 2 volúmenes y diluir con más *n*-heptano (30 l, 20,7 kg). Enfriar el contenido de la mezcla de reacción a 0-5°C y agitar la mezcla durante 2 horas a 0-5°C. Filtrar y secar los sólidos resultantes al vacío a 35-45°C para dar el compuesto del título (14,19 kg; 74,3%, basado en HPLC) como un polvo de color tostado 97,9% puro.

Preparación E

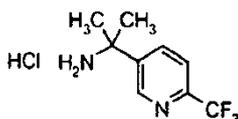
1-Metil-1-(6-trifluorometil-piridin-3-il)etilamina: compuesto con ácido tolueno-4-sulfónico



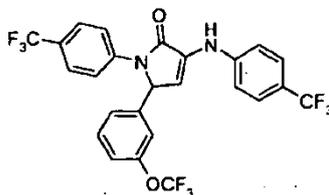
- Añadir una solución de 1-metil-1-(6-trifluorometil-piridin-3-il)-etilamina (280 g, 1,37 moles) en metil *t*-butil éter (1,4 l) a una solución de ácido *p*-toluenosulfónico monohidratado (212,5 g, 1,23 moles) en tetrahidrofurano (980 ml). Observar un pH de 2,0 y una exotermia a 28°C. Enfriar a 18°C y filtrar los sólidos. Enjuagar la torta del filtro con metil *t*-butil éter (1,4 l). Secar al vacío la torta del filtro a temperatura ambiente y recoger 408 g (79%) del compuesto del título como un sólido blanco. RMN de ^1H (DMSO- d_6 , 500 MHz): δ 8,94 (d, 1 H, $J = 2,5$), 8,53 (s a, 3 H), 8,2 (dd, 1 H, $J = 5,5, 8$), 8,02 (d, 1 H, $J = 8$), 7,46 (d, 2 H, $J = 8$), 7,10 (d, 2 H, $J = 7,5$), 2,27 (s, 3 H), 1,68 (s, 6 H).

Preparación F1-Metil-1-(6-trifluorometil-piridin-3-il) etilamina

- 5 Pesar en un matraz de 3 bocas de 5 l, 1-metil-1-(6-trifluorometil-piridin-3-il)-etilamina; compuesto con ácido tolueno-4-sulfónico (990 g, 2,63 moles). Añadir metil t-butil éter (2,48 l) para formar una suspensión que se enfría con un baño de hielo. Añadir una solución 5 M de hidróxido sódico (578,64 ml, 2,89 moles) para dar una mezcla bifásica a pH 12,2. Separar las fases y extraer la fase orgánica con agua (125 ml). Eliminar la fase orgánica y concentrar a presión reducida para proporcionar un residuo (200 g). Extraer la fase acuosa con una mezcla de metil t-butil éter (990 ml) y tetrahidrofurano (1,32 l). Separar la fase orgánica y concentrar a presión reducida para dar otro residuo (200 g).
- 10 Observar que el pH de la fase acuosa sea pH 10,1 y añadir NaOH 5 N (157,8 ml, 0,789 mol) para obtener un pH 13. Extraer la fase acuosa con diclorometano (1,32 l). Separar las fases y concentrar la fase orgánica hasta obtener un tercer residuo. Combinar los tres residuos de amina, suspender en heptano (1 l) mezclando y concentrar la suspensión para dar 427 g (79,5%) del compuesto del título purificado como un sólido cristalino blanco. RMN de ¹H (CDCl₃, 500 MHz): δ 8,91 (d, 1 H, J = 2,5), 8,05 (dd, 1 H, J = 2, 8), 7,64 (d, 1 H, J = 8,5), 1,68 (s a, 2 H), 1,55 (s, 6 H).

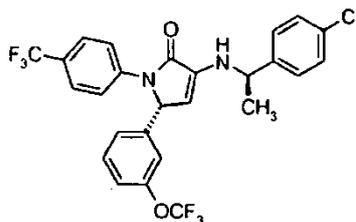
15 Preparación GClorhidrato de 1-metil-1-(6-trifluorometil-piridin-3-il)-etilamina

- 20 Disolver 1-metil-1-(6-trifluorometil-piridin-3-il)-etilamina de la Preparación F (1,0 g, 4,9 mmol) en acetona (10 ml) a temperatura ambiente y agitar durante 5 minutos. Añadir ácido clorhídrico concentrado (12,18 N) (0,4 ml, 4,9 mmol) gota a gota y con agitación continua y observar la formación de un sólido blanco. Enfriar la mezcla de reacción a 0°C y seguir agitando durante 30 minutos. Filtrar el sólido resultante y enjuagar con acetona fría (2 ml). Secar al vacío a 40°C para proporcionar el compuesto del título (0,73 g, 62%) como un sólido blanco: RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9,17 (s (a), 3 H), 9,02 (d, 1 H, J = 2,4 Hz), 8,32 (dd, 1 H, J = 8,0, 2,0 Hz), 7,97 (d, 1 H, J = 8,4 Hz), 1,71 (s, 6 H); RMN de ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆) δ 148,0, 146,2 (c, J_{CF} = 34,0 Hz), 142,4 (d, J_{CF} = 0,8 Hz), 136,0. 121,9 (c, J_{CF} = 273 Hz), 120,8 (t, J_{CF} = 2,6 Hz), 54,9, 27,5.
- 25

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

- 30 Agitar 3-(trifluorometoxi)-benzaldehído (25,0 g, 132 mmol) y piruvato de etilo (15,3 g, 132 mmol) en ácido acético glacial (125 ml) a temperatura ambiente durante 10 minutos. Añadir 4-(trifluorometil)anilina (46,7 g, 290 mmol) gota a gota durante 15 minutos con agitación continua, calentar la solución a 30°C y agitar 22-24 h. Enfriar la solución a 26°C, añadir alcohol iso-propílico (125 ml) y agua (125 ml). Agitar la solución a temperatura ambiente durante 15 minutos, filtrar el precipitado y lavar con una mezcla 1:1 de alcohol *iso*-propílico-agua (100 ml x 2). Secar al vacío a 40°C para dar el compuesto del título (60,46 g, 84%) como un polvo blanco: HPLC (Método C), tiempo de retención: 10,9 minutos. EM (m/z): 545,1 (M-1). RMN de ¹H (500 MHz, DMSO-d₆) δ 8,76 (s, 1 H), 7,86 (d, 2 H, J = 8,5 Hz), 7,70 (d, 2 H, J = 8,5 Hz), 7,56 (d, 2 H, J = 9,0 Hz), 7,47 (d, 2 H, J = 8,5 Hz), 7,44-7,41 (m, 1 H), 7,37 (s, 1 H), 7,29 (d, 1 H, J = 8,0 Hz), 7,22 (d, 1 H, J = 8,0 Hz), 6,66 (d, 1 H, J = 3,0 Hz), 6,29 (d, 1 H, J = 2,5 Hz).
- 35

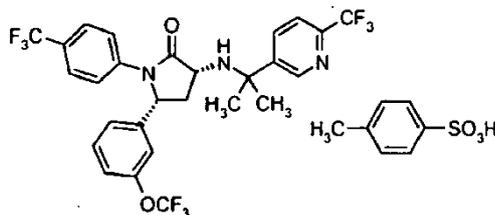
Preparación I

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

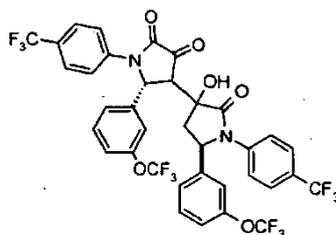
- 5 Mezclar etanol (120 ml), ácido acético glacial (15 ml), agua (3,0 ml, 164,7 mmol), ácido trifluoroacético (6,2 ml, 82,4 mmol), (\pm)-5-(3-trifluorometoxi-fenil)-1-(4-trifluorometil-fenil)-3-(4-trifluorometil-fenilamino)-1,5-dihidro-pirrol-2-ona (30,0 g, 54,9 mmol) y 2,5-dimetoxi-tetrahidrofurano (10,7 ml, 82,4 mmol). Calentar la solución a 50°C y agitar la mezcla de reacción durante 15-18 horas. Suspender el calentamiento de la solución, añadir agua (35 ml) y enfriar la mezcla de reacción a -19°C. Filtrar la suspensión y lavar el sólido con una mezcla 1:4 de agua - metanol (20 ml).
- 10 Transferir el filtrado a un embudo de decantación y lavar con salmuera 6% (280 ml), añadir a la fase orgánica salmuera 6% (100 ml), metanol (40 ml), éter dietílico (100 ml) y una solución saturada de bicarbonato sódico (43 ml). Separar las capas, añadir metanol (60 ml) a la fase orgánica y concentrar la solución hasta aproximadamente 1 volumen que contiene (\pm)-5-(3-trifluorometoxi-fenil)-1-(4-trifluorometil-fenil)-pirrolidina-2,3-diona. Añadir metanol (60 ml) y (R)-4-cloro-alfa-metilbencilamina (7,8 ml, 55,0 mmol) y agitar a temperatura ambiente durante 24 horas. Controlar la finalización de la reacción por HPLC (Método B), a continuación enfriar la solución a -7°C y seguir agitando a esta temperatura durante 72 horas. Añadir una solución pre-mezclada de hidróxido de potasio (0,69 g, 10,5 mmol) en metanol (11 ml) a la mezcla de reacción, calentar la solución a 10°C y agitar durante 4 horas más. Enfriar la solución a -7°C, filtrar la suspensión y enjuagar el producto resultante con metanol (5 ml x 3). Secar el sólido al vacío para obtener (R)-1-(4-trifluorometil-fenil)-3-[1(R)-(4-cloro-fenil)-etilamino]-5-(3-trifluorometoxifenil)-1,5-dihidro-pirrol-2-ona (12,3 g, 47,7%) como un sólido blanco: HPLC (Método B), tiempo de retención: 4,3 minutos. EM (m/z): 539,0 (M-1). RMN de ^1H (500 MHz, DMSO- d_6) δ 7,76 (d, 2 H, $J = 8,5$ Hz), 7,62 (d, 2 H, $J = 9,0$ Hz), 7,38-7,36 (m, 2 H), 7,30-7,27 (m, 3H), 7,10 (dd, 1 H, $J = 8,5, 1,0$ Hz), 7,05 (d, 1 H, $J = 7,5$ Hz), 6,95 (s, 1 H), 6,06 (d, 1 H, $J = 8,0$ Hz), 5,96 (d, 1 H, $J = 3,0$ Hz), 5,22 (d, 1 H, $J = 3,0$ Hz), 4,35-4,32 (m, 1 H), 1,43 (d, 3H, $J = 6,5$ Hz).
- 20

Ejemplo 1

- 25 (3R,5R)-3-[1-Metil-1-(6-trifluorometil-piridin-3-il)-etilamino]-1-(4-trifluorometil-fenil)-5-(3-trifluorometoxi-fenil)-pirrolidin-2-ona, 4-metilbencenosulfonato (1:1)



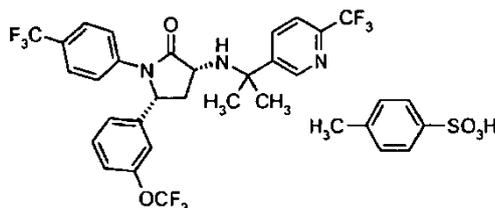
- 30 Agitar (R)-1-(4-trifluorometil-fenil)-3-[(1R)-1-(4-clorofenil)-etilamino]-5-(3-trifluorometoxifenil)-1,5-dihidropirrol-2-ona (50,0 g, 92,4 mmol), tolueno (200 ml), y agua (100 ml) a temperatura ambiente durante 10 minutos. Añadir ácido trifluoroacético (50,0 ml, 0,66 mol) a la solución bifásica anterior y observar una ligera exotermia (23 a 30°C).
- 35 Controlar la reacción por HPLC (método A) y después de 1-2 horas transferir la solución a un embudo de decantación y eliminar la capa acuosa. Lavar la fase orgánica con ácido clorhídrico 5 N (200 ml x 2), agua (200 ml) y analizar la capa orgánica para asegurar la eliminación de la (R)-4-cloro-alfa-metilbencilamina. Colocar la solución orgánica en un matraz de reacción y reservar. En un matraz separado mezclar clorhidrato de 1-metil-1-(6-trifluorometil-piridin-3-il)-etilamina (33,4 g, 138,6 mmol), tolueno (150 ml), hidróxido sódico 2 N (110 ml, 212,6 mmol) y agitar a temperatura ambiente durante 30 minutos. Separar la capa orgánica y transferir a un matraz limpio. Agitar la solución y añadir ácido acético (52 ml) para observar una ligera exotermia (23 a 32°C). Añadir a la mezcla de reacción la solución anterior que contiene (5R)-5-(3-trifluorometoxi-fenil)-1-(4-trifluorometil-fenil)-pirrolidin-2,3-diona (37,3 g, 92,4 mmol teórico) en tolueno (200 ml) y calentar a 45°C con agitación durante 14-18 horas. Comprobar la solución por HPLC (Método A) para observar la desaparición de la (5R)-3-hidroxi-5-(3-trifluorometoxi-fenil)-1-(4-trifluorometil-fenil)-1,5-dihidro-pirrol-2-ona, dímero (ver más abajo) y enfriar la solución a temperatura ambiente.
- 40



Transferir la solución a un embudo de decantación y lavar la solución de color púrpura con cloruro sódico acuoso al 3% (120 ml x 2), solución saturada de bicarbonato sódico (120 ml) y salmuera 3% (120 ml). Transferir la fase orgánica a un matraz, concentrar hasta aproximadamente 2 volúmenes (100 ml) y añadir tolueno fresco (150 ml). Agitar la reacción de color púrpura durante 5 minutos bajo una purga de nitrógeno y añadir triacetoxiborohidruro sódico (39,2 g, 184,9 mmol) en una porción a temperatura ambiente. Añadir ácido trifluoroacético (50,0 ml, 655,3 mmol) lentamente hasta observar una reacción exotérmica (23 a 34°C), teniendo cuidado de no exceder una temperatura interna superior a 35°C. Agitar la reacción a temperatura ambiente durante 2-4 horas y controlar la finalización de la reacción por HPLC (método A). Añadir agua (250 ml), metil *tert*-butil-éter (150 ml) y separar las capas. Lavar la capa orgánica con hidróxido sódico 2 N (150 ml), agua, (150 ml x 2) y transferir la fase orgánica que contiene el producto a un matraz. Concentrar la solución hasta aproximadamente 2 volúmenes (100 ml), añadir tolueno fresco (450 ml) y concentrar de nuevo hasta aproximadamente 2 volúmenes (100 ml). Añadir tolueno fresco (450 ml), calentar la solución a 50°C con agitación y añadir ácido *p*-toluenosulfónico monohidratado (14,1 g, 73,9 mmol) como una solución en etanol (60 ml). Enfriar la mezcla de reacción a temperatura ambiente y agitar durante 1 hora. Filtrar el precipitado, lavar con tolueno (50 ml x 2) y secar al vacío a 40°C para proporcionar el compuesto del título (31,6 g, 44,8%) como un polvo blanco: HPLC (Método A), tiempo de retención: 8,0 minutos. EMAR (m/z): 592,1641 (M+1). RMN de ¹H (500 MHz, DMSO-d₆) δ 9,08 (d, *J* = 2,2 Hz, 1 H), 8,42 (dd, *J* = 8,2, 2,2 Hz, 1 H), 8,02 (d, *J* = 8,2 Hz, 1 H), 7,64-7,62 (m, 2 H), 7,52-7,47 (m, 4 H), 7,41-7,38 (m, 1 H), 7,33 (d, *J* = 7,7 Hz, 1 H), 7,28 (s, 1 H), 7,19 (d, *J* = 8,2 Hz, 1 H), 7,11-7,10 (m, 2 H), 5,37 (dd, *J* = 9,3, 6,0 Hz, 1 H), 4,34 (s, 1 H), 2,78-2,72 (m, 1 H), 2,27 (s, 3 H), 2,04 (dd, *J* = 21,4, 11,0 Hz, 1 H), 1,88 (s, 3 H), 1,87 (s, 3 H).

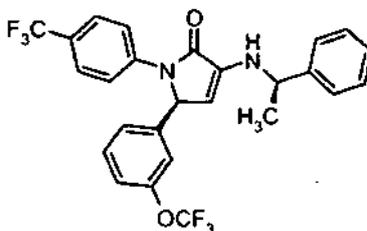
Ejemplo 2

Purificación de (3*R*,5*R*)-3-[1-metil-1-(6-trifluorometil-piridin-3-il)-etilamino]-1-(4-trifluorometil-fenil)-5-(3-trifluorometoxi-fenil)-pirrolidin-2-ona, 4-metilbencenosulfonato (1:1)

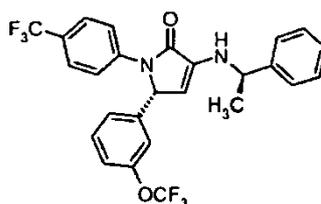


Mezclar (3*R*,5*R*)-3-[1-metil-1-(6-trifluorometil-piridin-3-il)-etilamino]-1-(4-trifluorometil-fenil)-5-(3-trifluorometoxi-fenil)-pirrolidin-2-ona, 4-metilbencenosulfonato (1:1) (5,0 g, 6,55 mmol), tolueno (75 ml) y solución acuosa de carbonato sódico 10% (25 ml) a temperatura ambiente durante 1 hora. Separar las capas y lavar la fase orgánica con agua (25 ml x 2). Colocar la fase orgánica en un matraz y concentrar hasta aproximadamente 2 volúmenes (10 ml). Añadir tolueno fresco (50 ml), concentrar la solución hasta aproximadamente 2 volúmenes (10 ml) y añadir tolueno fresco (65 ml). Calentar la solución a 55°C con agitación y añadir ácido *p*-toluenosulfónico monohidratado (1,27 g, 6,55 mmol) como una solución en etanol (5,5 ml). Enfriar la mezcla de reacción a temperatura ambiente y agitar durante 1 hora. Filtrar la suspensión resultante, lavar el sólido con tolueno (5 ml x 2) y secar al vacío a 40°C para dar el compuesto del título (4,5 g, 90,4%) como un sólido cristalino blanco: HPLC (Método A), tiempo de retención: 8,0 minutos. EMAR (m/z): 592,1641 (M+1). RMN de ¹H (500 MHz, DMSO-d₆) δ 9,08 (d, *J* = 2,2 Hz, 1 H), 8,42 (dd, *J* = 8,2, 2,2 Hz, 1 H), 8,02 (d, *J* = 8,2 Hz, 1 H), 7,64-7,62 (m, 2 H), 7,52-7,47 (m, 4 H), 7,41-7,38 (m, 1 H), 7,33 (d, *J* = 7,7 Hz, 1 H), 7,28 (s, 1 H), 7,19 (d, *J* = 8,2 Hz, 1 H), 7,11-7,10 (m, 2 H), 5,37 (dd, *J* = 9,3, 6,0 Hz, 1 H), 4,34 (s, 1 H), 2,78-2,72 (m, 1 H), 2,27 (s, 3 H), 2,04 (dd, *J* = 21,4, 11,0 Hz, 1 H), 1,88 (s, 3 H), 1,87 (s, 3 H).

También se puede sintetizar el (3*R*,5*R*)-3-[1-metil-1-(6-trifluorometil-piridin-3-il)-etilamino]-1-(4-trifluorometil-fenil)-5-(3-trifluorometoxi-fenil)-pirrolidin-2-ona, 4-metilbencenosulfonato (1:1) utilizando:

Preparación la(S)-1-(4-Trifluorometil-fenil)-3-((R)-1-fenil-etilamino)-5-(3-trifluorometoxifenil)-1,5-dihidro-pirrol-2-ona

y

5 Preparación 1b(R)-1-(4-Trifluorometil-fenil)-3-((R)-1-fenil-etilamino)-5-[3-trifluorometoxifenil]-1,5-dihidro-pirrol-2-ona

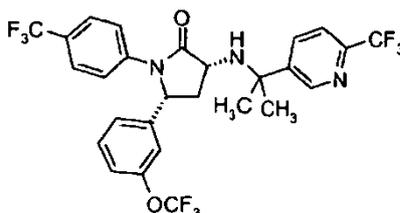
10 Añadir (*R*)-(+)- α -metil bencilamina (45,0 ml, 349,8 mmol) a la capa orgánica descrita en la Preparación I que contiene (\pm)-5-(3-trifluorometoxi-fenil)-1-(4-trifluorometil-fenil)-pirrolidin-2,3-diona. Agitar la solución a temperatura ambiente durante 72 horas. Concentrar la mezcla de reacción y purificar por cromatografía en gel de sílice (5-15% EtOAc-hexano) para proporcionar (*S*)-1-(4-trifluorometil-fenil)-3-((*R*)-1-fenil-etilamino)-5-(3-trifluorometoxi-fenil)-1,5-dihidro-pirrol-2-ona (32,4 g, 37%) como una espuma de color tostado y (*R*)-1-(4-trifluorometil-fenil)-3-((*R*)-1-fenil-etilamino)-5-(3-trifluorometoxi-fenil)-1,5-dihidro-pirrol-2-ona (26,0 g, 29%) como un aceite de color naranja pálido.

(S)-1-(4-Trifluorometil-fenil)-3-((R)-1-fenil-etilamino)-5-(3-trifluorometoxifenil)-1,5-dihidro-pirrol-2-ona

15 RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ 7,74 (d, 2 H, $J = 8,8$ Hz), 7,62 (d, 2 H, $J = 8,8$ Hz), 7,39-7,34 (m, 3H), 7,28 (dd, 2 H, $J = 7,7, 7,1$ Hz), 7,21-7,14 (m, 4 H), 6,04 (d, 1 H, $J = 7,5$ Hz), 5,91 (d, 1 H, $J = 2,6$ Hz), 5,21 (d, 1 H, $J = 2,6$ Hz), 4,31-4,23 (m, 1 H), 1,42 (d, 3 H, $J = 7,0$ Hz). EM (m/z): 507 (M+1).

(R)-1-(4-Trifluorometil-fenil)-3-((R)-1-fenil-etilamino)-5-(3-trifluorometoxifenil)-1,5-dihidro-pirrol-2-ona

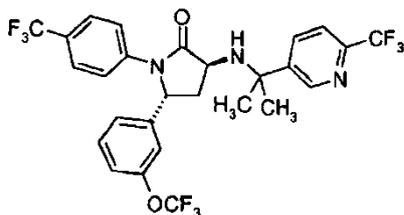
20 RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ 7,76 (d, 2 H, $J = 8,8$ Hz), 7,62 (d, 2 H, $J = 8,8$ Hz), 7,34 (d, 2 H, $J = 7,0$ Hz), 7,28-7,20 (m, 3 H), 7,14-7,06 (m, 2 H), 7,02 (d, 1 H, $J = 7,9$ Hz), 6,96 (s, 1 H), 5,96-5,92 (m, 2 H), 5,19 (d, 1 H, $J = 2,6$ Hz), 4,36-4,27 (m, 1 H), 1,44 (d, 3 H, $J = 7,0$ Hz). EM (m/z): 507 (M+1).

Ejemplo 3(3*R*,5*R*)-3-[1-Metil-1-(6-trifluorometil-piridin-3-il)-etilamino]-1-(4-trifluorometil-fenil)-5-(3-trifluorometoxi-fenil)-pirrolidin-2-ona

25 y

Ejemplo de referencia 4

(3*S*,5*R*)-3-[1-Metil-1-(6-trifluorometil-piridin-3-il)-etilamino]-1-(4-trifluorometil-fenil)-5-(3-trifluorometoxi-fenil)-pirrolidin-2-ona



5 Añadir ácido trifluoroacético (21,6 ml, 285 mmol) gota a gota a una mezcla bifásica de (*R*)-1-(4-trifluorometil-fenil)-3-((*R*)-1-fenil-etilamino)-5-(3-trifluorometoxifenil)-1,5-dihidro-pirrol-2-ona (28,9 g, 57,1 mmol) en tolueno (144 ml) y agua (58 ml). Agitar a temperatura ambiente durante 60 minutos. Observar una formación significativa de (*R*)-5-[3-trifluorometoxi-fenil]-1-(4-trifluorometil-fenil)-pirrolidin-2,3-diona (CL EM 85%, tiempo de retención = 4,27 minutos, Método D) EM (m/z): 402 (M-1).

10 Separar la capa acuosa y lavar la capa de tolueno con agua, tampón de pH 7 y una solución saturada de cloruro sódico. Añadir ácido acético (26,2 ml, 456 mmol) y 1-metil-1-(6-trifluorometil-piridin-3-il)-etilamina (23,3 g, 114 mmol) a la solución de tolueno que contiene (*R*)-5-[3-trifluorometoxi-fenil]-1-(4-trifluorometil-fenil)-pirrolidin-2,3-diona. Calentar a 55°C durante 18 horas. Observar una formación significativa de (*R*)-3-[1-metil-1-(6-trifluorometil-piridin-3-il)-etilamino]-5-(3-trifluorometoxi-fenil)-1-(4-trifluorometil-fenil)-1,5-dihidro-pirrol-2-ona (CL EM 100%, tiempo de retención = 5,59 minutos, Método D, EM (m/z): 590 (M+1)). Concentrar a presión reducida. Disolver el producto bruto

15 (*R*)-3-[1-metil-1-(6-trifluorometil-piridin-3-il)-etilamino]-5-(3-trifluorometoxi-fenil)-1-(4-trifluorometil-fenil)-1,5-dihidro-pirrol-2-ona en ácido acético (285 ml) y añadir cianoborohidruro sódico (7,2 g, 114 mmol). Agitar 1,75 horas a temperatura ambiente y concentrar a presión reducida. Disolver el residuo en acetato de etilo y lavar con solución saturada de bicarbonato sódico, agua y solución saturada de cloruro sódico. Secar la solución sobre sulfato sódico, filtrar y concentrar a presión reducida. Purificar el residuo por cromatografía en gel de sílice (10-30% acetato de etilo-hexano) para obtener (3*R*,5*R*)-3-[1-metil-1-(6-trifluorometil-piridin-3-il)-etilamino]-1-(4-trifluorometil-fenil)-5-(3-trifluorometoxi-fenil)-pirrolidin-2-ona (18,0 g, 53%) como un aceite amarillo y (3*S*,5*R*)-3-[1-metil-1-(6-trifluorometil-piridin-3-il)-etilamino]-1-(4-trifluorometil-fenil)-5-(3-trifluorometoxi-fenil)-pirrolidin-2-ona (0,92 g, 2,7%) como un aceite.

(3*R*,5*R*)-3-[1-Metil-1-(6-trifluorometil-piridin-3-il)-etilamino]-1-(4-trifluorometil-fenil)-5-(3-trifluorometoxi-fenil)-pirrolidin-2-ona

25 RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8,96 (d, 1 H, *J* = 2,2 Hz), 8,24 (dd, 1 H, *J* = 8,4, 1,8 Hz), 7,80 (d, 1 H, *J* = 8,4 Hz), 7,57 (d, 2 H, *J* = 8,8 Hz), 7,47 (d, 2 H, *J* = 8,4 Hz), 7,36 (dd, 1 H, *J* = 7,8, 7,8 Hz), 7,26 (d, 1 H, *J* = 7,9 Hz), 7,21 (s, 1 H), 7,12 (d, 1 H, *J* = 8,1 Hz), 5,25 (dd, 1 H, *J* = 9,7, 6,2 Hz), 3,47-3,39 (m, 1 H), 2,89 (d, 1 H, *J* = 4,4 Hz), 2,70 (ddd, 1 H, *J* = 13,3, 6,9, 5,2 Hz), 1,65 (dd, 1 H, *J* = 21,8, 10,4 Hz), 1,48 (s, 3H), 1,44 (s, 3H).

EM (m/z): 592 (M+1).

30 Formación de sal: tosilato - Añadir un equivalente de ácido p-toluenosulfónico monohidratado y cristalizar en isopropanol. Rendimiento 85%, EM (m/z): 592 (M+1).

Formación de sal: clorhidrato - Añadir un equivalente de ácido clorhídrico en éter dietílico para formar la sal clorhidrato y recristalizar en isopropanol. Rendimiento 63%, EM (m/z): 592 (M+1).

(3*S*,5*R*)-3-[1-Metil-1-(6-trifluorometil-piridin-3-il)-etilamino]-1-(4-trifluorometil-fenil)-5-(3-trifluorometoxi-fenil)-pirrolidin-2-ona

35 RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8,92 (s, 1 H), 8,19 (d, 1 H, *J* = 7,9 Hz), 7,78-7,70 (m, 3 H), 7,64 (d, 2 H, *J* = 8,8 Hz), 7,39-7,34 (m, 1 H), 7,20-7,12 (m, 2 H), 7,10 (s, 1 H), 5,62 (d, 1 H, *J* = 8,3 Hz), 3,50-3,43 (m, 1 H), 2,86 (d, 1 H, *J* = 4,0 Hz), 2,43-2,33 (m, 1 H), 2,9-2,2 (m, 1 H), 1,46 (s, 3 H), 1,43 (s, 3 H),

EM (m/z): 592 (M+1).

Formación de sal: tosilato - Añadir un equivalente de ácido p-toluenosulfónico monohidratado y cristalizar en isopropanol-heptano. Rendimiento 80%, EM (m/z): 592 (M+1).

40 Ensayos funcionales *in vitro* de CB₁ y CB₂

Unión de GTP-γ-³⁵S a SPA para captura de anticuerpo

En membranas celulares que expresan receptor CB₁ o CB₂ humano o de rata, ensayar (3*R*,5*R*)-3-[1-metil-1-(6-trifluorometil-piridin-3-il)-etilamino]-1-(4-trifluorometil-fenil)-5-(3-trifluorometoxi-fenil)-pirrolidin-2-ona, 4-metil-benceno-sulfonato (1:1) (referido como "Ejemplo 2") para determinar la unión funcional antagonista/agonista inverso a GTP. En un formato de 96 pocillos usando una técnica de captura de anticuerpo modificado (DeLapp et al., 1999), medir la unión a GTP-γ-³⁵S. Incubar brevemente durante 30 minutos a temperatura ambiente el tampón de ensayo de unión a GTP (Hepes 20 mM, NaCl 10 mM, MgCl₂ 5 mM, pH 7,4), CHO o las membranas celulares Sf9 que expresan CB₁ o CB₂ (Applied Cell Sciences, Gaithersburg, MD; PerkinElmer Life Sciences, Boston, MA; preparar membranas como se ha descrito previamente (DeLapp et al, 1999)), Ejemplo 2 y GTP-γ-³⁵S 500 pM (PerkinElmer Life Sciences, Boston, MA). Ensayar respuestas a dosis antagonistas en presencia de una dosis saturante de un agonista completo (metanandamida). Añadir,

además, a la placa de 96 pocillos una mezcla que contiene detergente Nonidet P40 0,27% (Roche, Indianapolis, IN), anti-anticuerpo Gi (dilución final de 1:300; Covance, Princeton, NJ) y 1,25 mg de perlas para ensayo de centelleo por proximidad con anticuerpo anti-conejo (GE Healthcare, Piscataway, NJ) y sellar las placas e incubar durante 3 horas más. Centrifugar las placas a 700 x g durante 10 minutos utilizando una centrifugadora Beckman GS-6R y contar durante 1 minuto por pocillo usando un contador de centelleo Wallac MicroBeta TriLux (PerkinElmer, Boston, MA).

Para analizar los datos, restar el fondo de todos los pozos. Determinar el porcentaje de eficacia agonista por normalización de los datos de respuesta a la dosis agonista/agonista respecto a la respuesta de un agonista completo (metanandamida). Calcular los datos del porcentaje de inhibición antagonista normalizando los resultados generados con una concentración saturante de agonista (metanandamida). Analizar los datos mediante un ajuste reducido logístico de 4 parámetros con Activity Base y XLFit3 (IDBS, Emeryville, CA). Determinar los valores K_b utilizando una modificación de la relación de Cheng-Prusoff: $K_b = CI_{50} / (1 + [\text{agonista}] / CE_{50})$ donde CI_{50} se determina a partir de un ajuste de cuatro parámetros de las curvas de desplazamiento, $[\text{agonista}] = CE_{50}$ de agonista completo y la CE_{50} se determina a partir de un ajuste de cuatro parámetros de una curva de concentración del agonista completo-respuesta (Cheng y Prusoff, 1973). Calcular la media de los valores K_b como la media de al menos tres determinaciones independientes \pm error estándar de la media (EEM).

La Tabla 1 resume las propiedades antagonista/agonista inverso del Ejemplo 2 en células CHO que expresan receptores CB_1 humano o de rata o células Sf9 que expresan receptores CB_2 humanos. Se concluyó que el Ejemplo 2 muestra un potente antagonismo por CB_1 humano y de rata sin antagonismo medible del receptor CB_2 humano. Los datos indican que el Ejemplo 2 es un potente antagonista/agonista inverso de CB_1 tanto en receptores de rata como humanos sin antagonismo en receptores CB_2 humanos.

La Tabla 2 resume las propiedades agonistas del Ejemplo 2 en membranas celulares Sf9 de células que expresan receptores CB_1 o CB_2 humanos. Estos datos demuestran que el Ejemplo 2 es un agonista inverso del receptor CB_1 humano como lo demuestra la eficacia agonista (Tabla 2) menor que cero, lo que indica que el compuesto disminuía la actividad basal constitutiva del receptor CB_1 in vitro. El Ejemplo 2 no tiene ninguna actividad agonista de CB_2 medible (Tabla 2).

Referencias:

DeLapp NW, McKinzie JH, Sawyer BD, Vandergriff A, Falcone J, McClure D and Felder CC (1999). Determination of [35 S]guanosine-5'-O-(3-thio)triphosphate binding mediated by cholinergic muscarinic receptors in membranes from Chinese hamster ovary cells and rat striatum using an anti-G protein scintillation proximity assay. *J Pharmacol Exp Ther* 289:946-955.

Cheng YC and Prusoff WH. 1973. Relationship between the inhibition constant (K_i) and the concentration of inhibitor which causes 50 per cent inhibition (CI_{50}) of an enzymatic reaction. *Biochem Pharmacol* 22:3099-3108.

Tabla 1

Unión funcional antagonista/agonista inverso a GTP de CB_1 y CB_2 in vitro para el Ejemplo 2 en CHO o membranas celulares Sf9 que expresan los receptores CB_1 y CB_2 humanos o de rata	
Ensayo de unión a GTP (CHO o membranas celulares Sf9)	Potencia como agonista inverso (K_b , nM)
CB_1 humano (células CHO)	$0,71 \pm 0,26$
CB_1 rata (células CHO)	$1,27 \pm 0,20$
CB_2 humano (células Sf9)	Sin actividad medible

Tabla 2

Unión agonista a GTP de CB_1 y CB_2 in vitro para el Ejemplo 2 en membranas celulares de células Sf9 que expresan los receptores humanos		
Ensayo de unión a GTP (membranas Sf9)	Potencia como agonista CE_{50} (nM)	Eficacia agonista %
CB_1 humano	$0,58 \pm 0,05$	$-47,9 \pm 4,7$
CB_2 humano	Sin actividad medible	0

35 Prueba de natación forzada (PNF)

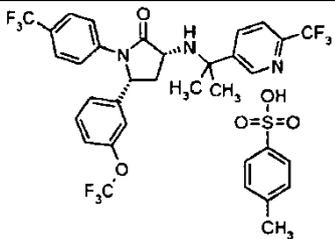
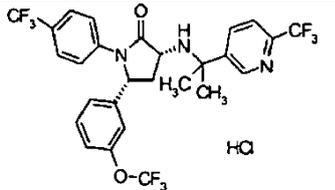
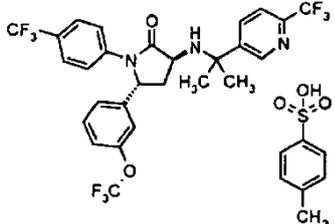
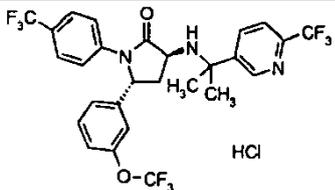
Recibir ratones NIH-Swiss macho (Harlan Sprague-Dawley, peso 20-25g) de 7 a 10 días antes de la prueba. Alojarse 12 ratones por jaula. Ensayar sólo animales que pesen 25-30 g. En el día de la prueba, llevar los animales a la sala de ensayo al menos 1 hora antes de la administración. Cuando se inicia la administración, administrar la dosis a intervalos de 6-8 minutos entre cada dosis, recibiendo cada ratón o el vehículo para administración (CMC 1%, SLS 0,5%, povidona 0,08%, antiespumante 0,05%) o el Ejemplo 2, p.o. A continuación, colocar a los ratones en una jaula limpia (4 ratones por jaula). Después de 90 minutos, iniciar la prueba tras un pretratamiento de 90 minutos con el Ejemplo 2 o vehículo.

- 5 Ratonés FST: Colocar ratones NIH-Swiss en probetas de plástico transparentes (diámetro: 10 cm, altura: 25 cm) llenos hasta 6 cm con agua a 22-25°C durante seis minutos. Registrar la duración de la inmovilidad durante los últimos 4 minutos de la prueba de seis minutos de duración. Un ratón se considera inmóvil cuando flota inmóvil o haciendo solamente los movimientos necesarios para mantener la cabeza fuera del agua. Analizar los datos por ANOVA con una prueba post hoc de Dunnett (alfa = 0,05; JMP). Registrar la dosis mínima efectiva (DME) como la dosis más baja de compuesto a la que se observa una disminución estadísticamente significativa en el tiempo de inmovilidad en comparación con un control vehículo.

Biodisponibilidad

- 10 Los métodos para determinar la biodisponibilidad son bien apreciados en la técnica. Una referencia de este tipo es Medicinal Research Reviews vol. 21 No. 5 382-396 (2001).

Tabla 3 Propiedades antagonista/agonista inverso, selectividad, (FST) y biodisponibilidad de varias sales de (3R,5R)-3-[1-metil-1-(6-trifluorometil-piridin-3-il)-etilamino]-1-(4-trifluorometil-fenil)-5-(3-trifluorometoxi-fenil)-pirrolidin-2-ona

Compuesto ilustrado	Unión de GTP- γ - ³⁵ S a SPA para captura de anticuerpo Potencia de agonista inverso		Biodisponibilidad Rata	Biodisponibilidad Perro	FST (MED mg/kg p.o.)
	CB ₁ (K _b , nM)*	CB ₂ (K _b , nM)			
 <p>Ejemplo 2</p>	2,7**	Sin actividad medible	65%	60%	1
 <p>Ejemplo 3 (sal HCl)</p>	0,70	Sin actividad medible	ND	ND	ND
 <p>Ejemplo de referencia 4 (sal tosilato)</p>	3,0	Sin actividad medible	ND	ND	ND
 <p>Ejemplo de referencia 4 (sal HCl)</p>	8,8	Sin actividad medible	ND	ND	ND

*hCB₁ SPA GTP- γ -³⁵S Mem Sf9 22,7 μ g de proteína/pocillo Antagonista

**prueba t Sf9 Tabla 3 frente a CHO Tabla 1, p=0,127 / ND = no determinado

Activación cortical: Activación de cFos.

Caracterizar el Ejemplo 2 en cuanto a su capacidad para activar la expresión génica y el eflujo de sustancias neuroquímicas en las regiones corticales y subcorticales y para interactuar con el agente antipsicótico atípico prototipo clozapina.

- 5 Métodos: Alojarse ratas Sprague Dawley macho (155-175 g) durante 1 semana antes de la experimentación. Preparar el Ejemplo 2 en una suspensión de vehículo de carboximetilcelulosa sódica 1%, laurilsulfato sódico 0,5%, antiespumante 0,05%, povidona 0,085% y administrar a las ratas (por ejemplo, ratas Sprague Dawley macho, 155-175 g) p.o. (una dosis de 1 ó 10 mg/kg). Las ratas control reciben vehículo. Administrar clozapina (Sigma) 1 hora más tarde a una concentración de 8 mg/ml en una solución de vehículo de ácido láctico 0,4% a una dosis de 8 mg/kg
- 10 s.c. Sacrificar los animales (n = 7-8 por grupo) por decapitación 2 horas después de la administración de clozapina o del vehículo para clozapina. Extraer rápidamente los cerebros enteros y sumergir inmediatamente en isopentano (2-metil butano) en hielo seco. Cortar las secciones coronales a través de la corteza prefrontal (PFC), núcleo accumbens (NAc) y el cuerpo estriado dorsolateral (DL-Str) a 14 μ m y realizar inmunohistoquímica Fos. Evaluar el índice de atipicidad (Robertson et al, 1994.) utilizando la siguiente fórmula: índice de atipicidad = (NAcD - NAcV) - (DL-StrD-DL-StrV), siendo el número promedio de neuronas Fos-li en NAc = núcleo accumbens, D = fármaco, V = vehículo, DL-Str = cuerpo estriado dorsolateral. Analizar los datos mediante un ANOVA unilateral mediante la prueba post hoc de Newman-Keul (Graph Pad Prism 4,03). Ajustar el nivel de significación a $p < 0,05$.

- 15 Resultados: Tanto la clozapina como el Ejemplo 2 tienden individualmente a aumentar de forma significativa la reactividad Fos cortical y subcortical. Obsérvese como el Ejemplo 2 aumenta los efectos de la clozapina sola tanto a 1 como a 10 mg/kg, p.o.

- 20 Conclusiones: Aumento de la expresión cFos en cerebro de rata, tanto en la corteza prefrontal como en las regiones subcorticales por el Ejemplo 2. Muestra un espectro similar de activación neuronal por clozapina. La adición del Ejemplo 2 a la clozapina tiene como resultado un aumento de la expresión de cFos inducida por la clozapina en áreas cerebrales críticas para la función cognitiva y el control de síntomas negativos. Obsérvese el efecto general del Ejemplo 2 sobre el efecto de la clozapina produciendo una firma neural de mayor atipicidad con respecto al impacto en el cuerpo estriado ventral frente al dorsal.

Estimulación de la liberación de neurotransmisores monoamina y recambio en regiones del cerebro asociadas con la cognición

- 30 Métodos: Implantar a ratas macho Sprague-Dawley (260 - 300 g, Taconic Farms, Germantown, NY) una cánula (BAS, West Lafayette, IN) en la corteza prefrontal (PFC) 5-7 días antes del experimento. Insertar una sonda de tipo concéntrico con una punta de membrana de 4 mm que se extiende por debajo de la cánula a través de la cánula alrededor de 16 horas antes de comenzar el experimento y recoger el microdializado de la corteza prefrontal y analizar el contenido de monoaminas y sus metabolitos. Calcular todos los datos de microdialisis como el porcentaje del cambio en las concentraciones basales del dializado, definiéndose el 100% definido como el promedio de los tres
- 35 valores finales antes de la inyección del fármaco y teniendo cada grupo 5-6 ratas. Analizar los datos con ANOVA y seguir mediante una prueba post-hoc de Bonferroni.

Resultados: Incremento de los niveles corticales de monoamina y metabolitos por dosis del Ejemplo 2 tan bajas como 1 mg/kg, p.o.

Comportamientos a la búsqueda de etanol: consumo de etanol de 12 h en ratas que prefieren el alcohol (ratas P)

- 40 Evaluar el Ejemplo 2 en cuanto a su capacidad para reducir el consumo de etanol en ratas criadas selectivamente para una alta ingesta oral de etanol (ratas P). Además, estudiar los efectos del Ejemplo 2 en condiciones en las que se podría evaluar los efectos del compuesto sobre la motivación o el control del comportamiento por el etanol.

- Métodos: Estudiar los efectos del Ejemplo 2 en ratas hembras que prefieren el alcohol (P) sobre el consumo de alcohol en un paradigma de acceso libre continuo. Probar con fines comparativos el antagonista opioide estándar naltrexona. Supervisar el consumo voluntario de etanol 15% (v/v). Suspender el Ejemplo 2 en vehículo (CMC 1%, SLS 0,5%, povidona 0,08%, antiespumante Dow Corning 1510 US 0,05%) y dar p.o. 3 horas antes del inicio del ciclo de oscuridad. Además, medir la actividad locomotora mediante un sensor de infrarrojos. Resultados: El consumo de etanol, pero no el de agua, se redujo de una manera dependiente de la dosis en el caso del Ejemplo 2 administrado por vía oral. La naltrexona, a dosis más altas, también fue capaz de reducir la ingesta de etanol. El Ejemplo 2 no alteraba significativamente la actividad locomotora de estas ratas hasta una dosis de 10 mg/kg.
- 45
- 50

Comportamientos a la búsqueda de etanol: respuesta proporcional progresiva mantenida por etanol

Evaluar la capacidad del Ejemplo 2 para reducir el impulso motivacional que controla la ingesta de etanol.

- Métodos: Estudiar ratas hembras que prefieren el alcohol (P) según un esquema proporcional progresivo en el cual la respuesta produce 15% de etanol (v/v). En el esquema proporcional progresivo, el requisito de respuesta para la dispensación de etanol aumenta de 1 a 2 y, a continuación, se incrementa en 2 después de 3 presentaciones de etanol.
- 55

Resultados: La administración del Ejemplo 2 en forma dependiente de la dosis reduce el comportamiento a la búsqueda de alcohol y el consumo de etanol consumido. El Ejemplo 2 reduce el punto de corte (la cantidad de trabajo que la rata tiene que realizar para lograr una cantidad fija de etanol) de una manera dependiente de la dosis [F (4,20) = 4,52, p = 0,009].

5 Eficacia in vivo en modelos de alimentación.

Métodos: Administrar el Ejemplo 2 a ratas macho Long-Evans con obesidad inducida por la dieta (OID). Establecer la OID mediante alimentación a voluntad desde el destete, con una dieta que consiste en 40% de grasa, 39% de hidratos de carbono y 21% de contenido calórico proteico durante al menos 12 semanas. Definir la potencia del compuesto por T17 (la dosis requerida para producir una diferencia respecto al grupo de vehículo de 17 gramos).
10 Esto representa una reducción mínima biológicamente relevante del 3-4% del peso corporal en comparación con el tratamiento con vehículos al cabo de 2 semanas.

Resultados: Disminución de la ingesta de alimentos acumulativa mediante la administración de Ejemplo 2 por vía oral una vez al día durante todo el estudio de 14 días. En consonancia con la ingesta reducida de alimentos, obsérvese la reducción de peso corporal acumulativa tras el tratamiento oral de 14 días con el Ejemplo 2,
15 produciendo un T17 estimado de 0,13 mg/kg. El análisis para la medición de la composición corporal por resonancia magnética nuclear cuantitativa (RMNC) muestra reducciones significativas en la masa de grasa a dosis entre 0,1 a 10 mg/kg con cambios mínimos en la masa libre de grasa con una de las dosis más altas.

Modelo de aumento de peso con antipsicóticos atípicos:

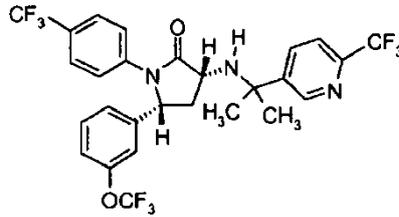
Métodos: Mantener ratas adultas hembras magras Sprague-Dawley con alimentación a voluntad con comida para roedores Purina LabDiet 5001 (12,3% de grasa) y agua. Tratar a un grupo (n = 7) con vehículo (ácido láctico 1%) en los días 1-14 y tratar al resto con olanzapina (2 mg/kg, p.o.). Seguir la ingesta de alimentos, vigilar el peso corporal y cambiar la masa grasa en un tratamiento de dos semanas. Después de 14 días de la administración del fármaco, dividir los animales tratados con olanzapina (n = 8 por grupo) y tratar un grupo con 0,3 mg/kg del Ejemplo 2 más olanzapina, tratar a un segundo grupo con 1 mg/kg del Ejemplo 2 más olanzapina y tratar el grupo final con vehículo más olanzapina durante los días 15-28.
20
25

Resultados: Observar los aumentos emergentes durante el tratamiento en la ingesta de alimentos acumulativa, el peso corporal y la masa grasa en comparación con controles tratados con vehículo con la administración oral una vez al día durante los 14 días del tratamiento con olanzapina. Además, el tratamiento con el Ejemplo 2 y olanzapina tiene como resultado una reducción significativa en el aumento de masa grasa con ambas dosis del Ejemplo 2, sin cambios en la masa libre de grasa.
30

Conclusiones: la administración oral diaria del Ejemplo 2 durante 14 días produjo una reducción significativa del peso corporal respecto a los controles tratados, las ratas macho Long-Evans mantenidas con una dieta con un alto contenido energético redujeron su ingesta de alimento. Estimar la dosis eficaz (T 17) de 0,13 mg/kg/día para el Ejemplo 2 para producir un cambio en la masa corporal respecto al control. Analizar los cambios en la composición corporal para determinar que la reducción de la masa corporal se debe a una reducción significativa en la masa grasa en dosis de hasta 10 mg/kg (la dosis más alta probada). Evaluar con una administración oral una vez al día del Ejemplo 2 ratas hembra Sprague-Dawley tratadas con olanzapina durante 14 días hasta dos semanas para ayudar a producir una reducción significativa en la masa de grasa en comparación con la de los controles tratados con olanzapina.
35

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de Fórmula



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 5 2. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.
3. La composición farmacéutica de la reivindicación 2, en la que el compuesto está presente en una pureza óptica mayor del 90% ee.
4. La composición farmacéutica de la reivindicación 2, en la que el compuesto está presente en una pureza óptica mayor del 95% ee.
- 10 5. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 para su uso en terapia.
6. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 para su uso en el tratamiento de un trastorno de la alimentación asociado con ingesta excesiva de alimentos, obesidad o esquizofrenia.
7. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 para su uso en combinación simultánea, separada o secuencial con un agente antipsicótico en el tratamiento de la obesidad o la esquizofrenia.