

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 448 498**

51 Int. Cl.:

C07D 207/34 (2006.01)
A61K 31/40 (2006.01)
A61P 9/00 (2006.01)
A61P 9/04 (2006.01)
A61P 9/10 (2006.01)
A61P 9/12 (2006.01)
A61P 13/12 (2006.01)
A61P 43/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.04.2008 E 08740010 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.01.2014 EP 2133330**

54 Título: **Atropisómero de derivado de pirrol**

30 Prioridad:

09.04.2007 JP 2007101938

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

14.03.2014

73 Titular/es:

DAIICHI SANKYO COMPANY, LIMITED (100.0%)
3-5-1, Nihonbashi Honcho Chuo-ku
Tokyo 103-8426, JP

72 Inventor/es:

AOKI, KAZUMASA;
TSURUOKA, HIROYUKI;
HAYASHI, NORIYUKI;
YOSHIDA, JURI y
ASOH, YUSUKE

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 448 498 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

Atropisómero de derivado de pirrol

Campo técnico

5 La presente invención se refiere a un atropisómero de un derivado de pirrol que tiene una excelente actividad antagonista del receptor de mineralocorticoides y a un agente profiláctico o terapéutico para la hipertensión, angina de pecho, síndrome coronario agudo, insuficiencia cardíaca congestiva, nefropatía, arteriosclerosis, infarto cerebral, fibrosis o aldosteronismo primario que contiene el mismo.

Antecedentes de la técnica

10 Es conocido que el receptor de mineralocorticoides (MR) (receptor de aldosterona) desempeña un papel importante en la regulación del balance electrolítico y la presión sanguínea en el cuerpo (véase, por ejemplo, el documento no de patente 1), y se conoce que los antagonistas del receptor de mineralocorticoides, tales como espironolactona y eplerenona, ambas de las cuales tienen una estructura esteroidea, son útiles para el tratamiento de la hipertensión y la insuficiencia cardíaca.

15 Además, como un antagonista del receptor de mineralocorticoides que tiene una cadena principal no esteroidea, se conoce un derivado de pirrol descrito en el documento WO 2006/012642 (Documento de patente 1). Sin embargo, no se conoce un atropisómero de un compuesto que tenga la fórmula general (I) de la invención.

[Documento no patente 1] Advances in Physiology Education, 26 (1): 8-20 (2002)

[Documento de patente 1] WO 2006/012642

Divulgación de la invención**20 Problemas a resolver por la invención**

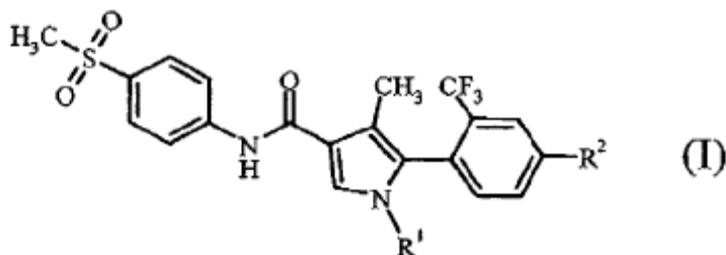
Los presentes inventores realizaron esfuerzos para desarrollar un agente profiláctico o terapéutico excelente para la enfermedad cardiovascular y realizaron estudios intensivos de las actividades farmacológicas de diversos derivados de pirrol. Como resultado, encontraron que existen atropisómeros para un compuesto que tiene la fórmula general (I), y que uno de los atropisómeros muestra una actividad antagonista de receptor de mineralocorticoides significativamente excelente (actividades *in vitro* e *in vivo*) y sostenibilidad del efecto del agente, y además tiene excelentes propiedades con respecto a la solubilidad, absorción oral, concentración sanguínea, estabilidad metabólica, seguridad y similares, y es útil como un producto farmacéutico, preferentemente, como un agente profiláctico o terapéutico (particularmente un agente terapéutico) para una enfermedad tal como hipertensión, angina de pecho, síndrome coronario agudo, insuficiencia cardíaca congestiva, nefropatía, arteriosclerosis, infarto cerebral, fibrosis, aldosteronismo primario o enfermedad del corazón, más preferentemente, para insuficiencia cardíaca congestiva, nefropatía, hipertensión o similares, de manera particularmente preferente para la hipertensión y, de esta manera, se ha completado la invención.

Medios para resolver los problemas

35 La invención proporciona un atropisómero de un compuesto que tiene la fórmula general (I), que tiene una excelente actividad antagonista de receptor de mineralocorticoides y un producto farmacéutico que contiene el mismo [un agente profiláctico o terapéutico (particularmente un agente terapéutico) para la hipertensión, angina de pecho, síndrome coronario agudo, insuficiencia cardíaca congestiva, nefropatía, arteriosclerosis, infarto cerebral, fibrosis, aldosteronismo primario o enfermedad del corazón (más preferentemente, para la insuficiencia cardíaca congestiva, nefropatía e hipertensión; de manera particularmente preferente para la hipertensión)].

Es decir, la invención se refiere a

40 (1) un atropisómero de un compuesto representado por la fórmula general (I) siguiente:



5

en la que R¹ es un grupo metilo o un grupo 2-hidroxietilo; y R² es un átomo de hidrógeno o un grupo metoxi, seleccionado de entre:

- (-)-1-(2-hidroxietil)-4-metil-N-[4-(metilsulfonyl)fenil]-5-[2-(trifluorometil)fenil]-1H-pirrol-3-carboxamida,
 (+)-1,4-dimetil-N-[4-(metilsulfonyl)fenil]-5-[2-(trifluorometil)fenil]-1H-pirrol-3-carboxamida; y
 (-)-1-(2-hidroxietil)-5-[4-metoxi-2-(trifluorometil)fenil]-4-metil-N-[4-(metilsulfonyl)fenil]-1H-pirrol-3-carboxamida.

10

Además, la invención se refiere a los siguientes aspectos:

(2) un atropisómero según (1), que es

(-)-1-(2-hidroxietil)-4-metil-N-[4-(metilsulfonyl)fenil]-5-[2-(trifluorometil)fenil]-1H-pirrol-3-carboxamida;

15

(3) un atropisómero según (1), que es

(+)-1,4-dimetil-N-[4-(meti-sulfonyl)fenil]-5-[2-(trifluorometil)fenil]-1H-pirrol-3-carboxamida;

(4) un atropisómero según (1), que es

(-)-1-(2-hidroxietil)-5-[4-metoxi-2-(trifluorometil)fenil]-4-metil-N-[4-(metilsulfonyl)fenil]-1H-pirrol-3-carboxamida;

20

(5) un producto farmacéutico que contiene el atropisómero según uno cualquiera de (1) a (4) como un ingrediente activo;

(6) un agente profiláctico o terapéutico para una enfermedad cardiovascular, que contiene el atropisómero según uno cualquiera de entre (1) a (4) como un ingrediente activo;

(7) un agente profiláctico o terapéutico para la hipertensión, que contiene el atropisómero según uno cualquiera de entre (1) a (4) como un ingrediente activo;

25

(8) una composición farmacéutica que comprende el atropisómero según uno cualquiera de entre (1) a (4) y un vehículo farmacológicamente aceptable.

El "atropisómero" se refiere a un isómero estructural basado en quiralidad axial o planar, resultante de la rotación restringida en la molécula. El compuesto que tiene la fórmula general (I) de la invención tiene dos atropisómeros derivados a partir de la quiralidad axial que resulta de la rotación restringida alrededor del enlace entre el grupo fenilo sustituido en la posición orto con un grupo trifluorometilo y el anillo pirrol sustituido, debido al impedimento estérico. El "atropisómero" de la invención es uno de los dos atropisómeros del compuesto que tiene la fórmula general (I) que muestra la más excelente actividad farmacológica, estabilidad, cinética in vivo, seguridad y similares y tiene propiedades favorables como un producto farmacéutico.

30

Ventajas de la Invención

El atropisómero de un compuesto que tiene la fórmula general (I) de la invención muestra una excelente actividad antagonista de receptor de mineralocorticoides y alta concentración en plasma y retención sanguínea, es excelente en la actividad farmacológica y en la cinética in vivo, tal como absorción oral, distribución in vivo y retención sanguínea, y también es altamente seguro para órganos tales como el riñón y el hígado. Además, el atropisómero de un compuesto que tiene la fórmula general (I) de la invención es muy estable. Por ejemplo, incluso después de tratar el atropisómero en metanol a temperatura ambiente durante 7 días o en un tampón de ácido acetonitrilo ftálico a 60°C durante 4 horas, no se observó racemización.

40

Por lo tanto, el atropisómero de un compuesto que tiene la fórmula general (I) de la invención es útil, por ejemplo, como un producto farmacéutico, y es particularmente útil como un producto farmacéutico para el tratamiento o la prevención de diversas enfermedades cardiovasculares (preferentemente, hipertensión, angina de pecho, síndrome coronario

agudo, insuficiencia cardiaca congestiva, nefropatía, arteriosclerosis, infarto cerebral, fibrosis, aldosteronismo primario o enfermedad del corazón).

Mejor modo de llevar a cabo la invención

5 El atropisómero de un compuesto que tiene la fórmula general (I) de la invención puede obtenerse sometiendo un compuesto racémico producido según el procedimiento descrito en el documento WO 2006/012642 a resolución óptica. La resolución óptica de los atropisómeros es esencialmente la misma que la de los enantiómeros debido a los carbonos asimétricos sp³ o similares, y sus ejemplos incluyen (1) un procedimiento por cristalización; (2) un procedimiento por reacción enzimática, y (3) un procedimiento por cromatografía. Sin embargo, no se limita a los mismos. En adelante, los procedimientos representativos de resolución óptica se describirán en detalle.

10 (1) Resolución óptica mediante cristalización

(a) Procedimiento preferencial de cristalización

Este es un procedimiento de resolución óptica que usa la propiedad de que una mezcla racémica se cristaliza de manera espontánea y puede conseguir resolución óptica sin necesidad de un elemento asimétrico.

(b) Procedimiento diastereómero

15 Este es un procedimiento en el que se permite que un compuesto quiral, denominado un agente de resolución óptica, actúe sobre un compuesto racémico para derivar el compuesto en dos diastereómeros y estos diastereómeros se separan mediante cristalización fraccionada utilizando la diferencia en solubilidad entre estos diastereómeros. La pureza óptica puede aumentarse repitiendo la recristalización. El enantiómero objetivo puede obtenerse eliminando el agente de resolución de un diastereoisómero único obtenido de esta manera. En la invención, es preferente un procedimiento en el que la cristalización fraccionada se realiza después de la derivación en diastereómeros cristalinos covalentes. Por ejemplo, en el caso en el que debe resolverse un alcohol racémico, el alcohol racémico se deriva en ésteres de diastereómeros con ácidos quiral carboxílicos, a partir de los cuales se toma un diastereómero escasamente soluble mediante recristalización, y el éster diastereómero único obtenido de esta manera se hidroliza, de manera que puede obtenerse un alcohol ópticamente activo.

25 (c) Procedimiento de complejo de inclusión

Este es un procedimiento de resolución óptica en el que mediante el uso de moléculas anfitrionas quirales y el uso de un enantiómero de un compuesto racémico como una molécula huésped, se forma un complejo de inclusión de manera diastereoselectiva y la pureza óptica es incrementada mediante recristalización.

(d) Enriquecimiento preferencial

30 Este procedimiento se caracteriza en que el enriquecimiento de un enantiómero es causado en un licor madre mediante recristalización de los cristales racémicos. Al mismo tiempo, se depositan cristales que tienen una pureza óptica baja con quiralidad opuesta a la del enantiómero en el licor madre.

(2) Reacción enzimática

35 En el caso en que se realiza una reacción de adición a un compuesto racémico usando una enzima, tal como lipasa, solo se produce la reacción de un compuesto ópticamente activo dependiendo del sustrato. Este es un procedimiento que utiliza esta propiedad y en el que, después de la reacción enzimática, el producto resultante se separa y se purifica mediante recristalización o cromatografía y, a continuación, el grupo funcional añadido se elimina bajo condiciones apropiadas para obtener el compuesto objetivo ópticamente activo. Por otra parte, también existe un procedimiento en el que un compuesto racémico es modificado específicamente por adelantado, y el compuesto racémico modificado se somete a una reacción de degradación enzimática y, a continuación, sólo se obtiene un compuesto ópticamente activo, de la misma manera que la descrita anteriormente.

40 (3) Resolución óptica directa mediante cromatografía

45 Cuando una fase estacionaria que incorpora un elemento asimétrico al cual está unido un derivado de un azúcar o similar se usa como un soporte, se causa una diferencia en el tiempo de retención de cromatografía, permitiendo, de esta manera, la resolución. Utilizando esta propiedad, puede realizarse una resolución directa mediante cromatografía líquida de alta resolución con una columna quiral. Los ejemplos de la columna quiral incluyen, por ejemplo, CHIRALPAK AD-H, CHIRALCEL OJ-HR (DAICEL) y similares.

50 En el caso en que el atropisómero de la invención se usa como un producto farmacéutico, el atropisómero de un compuesto que tiene la fórmula general (I) indicada anteriormente puede ser administrado como tal o mediante una mezcla con un excipiente, diluyente o similar, farmacológicamente aceptable apropiado, por vía oral en la forma de un

comprimido, una cápsula, un gránulo, un polvo, un jarabe o similar, o por vía parenteral en la forma de una inyección, un supositorio, un esparadrapo, una preparación para uso externo o similar.

Estas preparaciones se producen mediante procedimientos bien conocidos usando un aditivo, tal como un excipiente, un lubricante, un aglutinante, un desintegrante, un emulsionante, un estabilizante, un agente aromatizante o un diluyente.

La cantidad de atropisómero usado varía dependiendo de los síntomas, la edad o similares. Sin embargo, preferentemente, se administra en el caso de una administración oral a un ser humano adulto en una dosis de 0,02 mg/kg (preferentemente 0,1 mg/kg) como límite inferior y 100 mg/kg (preferentemente 10 mg/kg) como límite superior, en el caso de la administración parenteral a una dosis de 0,002 mg/kg (preferentemente 0,01 mg/kg) como límite inferior y 10 mg/kg (preferentemente 1 mg/kg) como límite superior, de una a seis veces al día dependiendo de los síntomas.

A continuación, la invención se describirá más detalladamente con referencia a los Ejemplos, los Ejemplos de ensayo y los Ejemplos de preparación. Sin embargo, el alcance de la invención no se limita a los mismos.

Ejemplos

Ejemplo 1

(+/-)-1,4-dimetil-N-[4-(metilsulfonyl)fenil]-5-[2-(trifluorometil)fenil]-1H-pirrol-3-carboxamida

El compuesto se sintetizó mediante el procedimiento descrito en el Ejemplo 16 del documento WO 2006/012642.

¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) δ: 7,90 (2H, d, J = 8,6 Hz), 7,83-7,80 (3H, m), 7,70-7,58 (3H, m), 7,34 (1H, d, J = 7,4 Hz), 7,30 (1H, s), 3,32 (3H, s), 3,05 (3H, s), 2,09 (3H, s). HR-MS (ESI) calculado para C₂₁H₂₀F₃N₂O₃S [M+H]⁺, m/z requerido: 437,1147, encontrado: 437,1157.

Ejemplo 2

Resolución óptica del compuesto del Ejemplo 1

Usando 5 ml de una solución de etanol (4 a 6 mg/ml) de (+/-)-1,4-dimetil-N-[4-(metilsulfonyl)fenil]-5-[2-(trifluorometil)fenil]-1H-pirrol-3-carboxamida, se realizó 9 veces una resolución bajo las siguientes condiciones de HPLC, y se obtuvieron 86 mg del isómero A como un sólido a partir de una fracción que contenía Isómero A (t_R = 11 min), y se obtuvieron 87 mg de isómero B como un sólido a partir de una fracción que contenía isómero B (t_R = 18 min).

Para la separación mediante HPLC usando una columna quiral, se usaron las condiciones siguientes.

Aparato: Shimadzu Class-VP System (LC-8/SCL-10AVP/SPD-10AVP); columna: CHIRALPAK AD-H (2 cm x 25 cm) columna de semi-fraccionamiento; caudal: 8.0 ml/min; disolvente de elución: etanol (100%, isocrático); detección: UV (254 nm)

Isómero A: (-)-1,4-dimetil-N-[4-(metilsulfonyl)fenil]-5-[2-(trifluorometil)fenil]-1H-pirrol-3-carboxamida

[α]_D²¹: -18° (c = 1,0, EtOH).

¹H-RMN (500 MHz, CDCl₃) δ: 7,92 (2H, d, J = 8,3 Hz), 7,85-7,80 (3H, m), 7,69-7,64 (2H, m), 7,61 (1H, t, J = 7,3 Hz), 7,35 (1H, d, J = 7,3 Hz), 7,31 (1H, s), 3,33 (3H, s), 3,06 (3H, s), 2,10 (3H, s).

HR-MS (ESI) calculado para C₂₁H₂₀F₃N₂O₃S [M+H]⁺, m/z requerido: 437,1147, encontrado: 437,1138.

Tiempo de retención: 4,1 min.

Para un análisis mediante HPLC usando una columna quiral, se usaron las condiciones siguientes. (En adelante, el análisis se realizó bajo las mismas condiciones. El tiempo de retención se determinó mediante HPLC quiral).

Aparato de análisis: Shimadzu Class-VP System (LC-10 ADVP/SCL-10AVP/SPD-M10AVP/CT010ACVP/ DGU12A); columna: CHIRALPAK AD-H (0,46 cm x 25 cm); Caudal: 1,0 ml/min; disolvente de elución: etanol (100%, isocrático); detección: UV (254 nm)

Isómero B: (+)-1,4-dimetil-N-[4-(metilsulfonyl)fenil]-5-[2-(trifluorometil)fenil]-1H-pirrol-3-carboxamida

[α]_D²²: 18° (c = 1,2, EtOH).

¹H-RMN (500 MHz, CDCl₃) δ: 7,91 (2H, d, J = 8,8 Hz), 7,85-7,80 (3H, m), 7,68-7,64 (2H, m), 7,61 (1H, t, J = 7,3 Hz),

7,35 (1H, d, J = 7,3 Hz), 7,31 (1H, s), 3,33 (3H, s), 3,06 (3H, s), 2,10 (3H, s).

HR-MS (ESI) calculado para $C_{21}H_{20}F_3N_2O_3S$ $[M+H]^+$, m/z requerido: 437,1147, encontrado: 437,1153.

Tiempo de retención: 6,3 min.

Ejemplo 3

5 (+/-)-1-(2-hidroxiethyl)-4-metil-N-[4-(metilsulfonil)fenil]-5-[2-(trifluorometil)fenil]-1H-pirrol-3-carboxamida

Después de obtener 4-metil-5-[2-(trifluorometil)fenil]-1H-pirrol-3-carboxilato de metilo mediante el procedimiento descrito en el Ejemplo 16 del documento WO 2006/012642, se realizó la reacción siguiente usando este compuesto como materia prima.

10 Se disolvió 4-metil-5-[2-(trifluorometil)fenil]-1H-pirrol-3-carboxilato de metilo (1,4 g, 4,9 mmol) en metanol (12 ml), y se añadió una solución 5 M de hidróxido de sodio acuoso (10 ml), y la mezcla resultante se calentó a reflujo durante 3 horas. Después de enfriar la mezcla a temperatura ambiente, se añadió ácido fórmico (5 ml) a la misma para detener la reacción. Después de concentrar la mezcla a presión reducida, se añadió agua (10 ml) a la misma para suspender el residuo resultante. El sólido precipitado se recogió mediante filtración y se lavó 3 veces con agua. El sólido obtenido se secó a presión reducida, de manera que se obtuvo ácido 4-metil-5-[2-(trifluorometil)fenil]-1H-pirrol-3-carboxílico (1,1 g, 83%) como un sólido. El sólido obtenido de esta manera se suspendió en diclorometano (10 ml), se añadió cloruro de oxalilo (0,86 ml, 10 mmol), y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. Después de concentrar la mezcla a presión reducida, el residuo se disolvió en tetrahidrofurano (10 ml), y se añadieron secuencialmente clorhidrato de 4-(metilsulfonil)anilina (1,0 g, 4,9 mmol) y N,N-diisopropiletilamina (2,8 ml, 16 mmol) a la solución, y la mezcla resultante se calentó a reflujo durante 18 horas. Después de enfriar la mezcla a temperatura ambiente, el disolvente se separó mediante destilación a presión reducida, y se añadieron acetonitrilo (10 ml) y ácido clorhídrico 3 M (100 ml) al residuo. Un sólido precipitado se trituró, se recogió mediante filtración y se lavó con agua y, a continuación, se secó a presión reducida, de manera que se obtuvo 4-metil-N-[4-(metilsulfonil)fenil]-5-[2-(trifluorometil)fenil]-1H-pirrol-3-carboxamida (1,4 g, 89%) como un sólido.

25 1H -RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 11,34 (1H, brs), 9,89 (1H, s), 7,97 (2H, d, J = 6,6 Hz), 7,87-7,81 (3H, m), 7,73 (1H, t, J = 7,4 Hz), 7,65-7,61 (2H, m), 7,44 (1H, d, J = 7,8 Hz), 3,15 (3H, s), 2,01 (3H, s).

30 Se disolvió hidruro sódico (0,12 g, 3 mmoles, dispersión al 60% en aceite mineral) en N,N-dimetilformamida (1,5 ml) y se añadió 4-metil-N-[4-(metilsulfonil)fenil]-5-[2-(trifluorometil)fenil]-1H-pirrol-3-carboxamida (0,47 g, 1,1 mmol) a la misma y, a continuación, la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. A continuación, se añadió 1,3,2-dioxatolano-2,2-dióxido (0,14 g, 1,2 mmol) a la misma, y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente. Después de 1 hora, se añadió de nuevo hidruro de sodio (40 mg, 1,0 mmoles, oleoso, 60%) a la misma, y la mezcla resultante se agitó durante 30 minutos. A continuación, se añadió 1,3,2-dioxatolano-2,2-dióxido (12 mg, 0,11 mmol) a la misma, y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Después de concentrar la mezcla a presión reducida, se añadió metanol (5 ml) al residuo y las sustancias insolubles se eliminaron mediante filtración, y el filtrado se concentró de nuevo. Al residuo se añadieron tetrahidrofurano (2 ml) y ácido clorhídrico 6 M (2 ml), y la mezcla resultante se agitó a 60°C durante 16 horas. La reacción se enfrió a temperatura ambiente y, a continuación, se disolvió en acetato de etilo, y se lavó con agua y solución salina saturada. La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se filtró. A continuación, el filtrado se concentró a presión reducida, y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (acetato de etilo), de manera que se obtuvo el compuesto objetivo (0,25 g, 48%).

40 1H -RMN (400 MHz, CDCl₃) δ : 7,89-7,79 (m, 6H), 7,66-7,58 (m, 2H), 7,49 (s, 1H), 7,36 (d, 1H, J = 7,4 Hz), 3,81-3,63 (m, 4H), 3,05 (s, 3H), 2,08 (s, 3H).

HR-MS (ESI) calculado para $C_{22}H_{22}F_3N_2O_4S$ $[M+H]^+$, m/z requerido: 467,1252, encontrado: 467,1246.

Calculado anal. para $C_{22}H_{21}F_3N_2O_4S$: C, 56,65, H, 4,54, N, 6,01, F, 12,22, S, 6,87. Encontrado: C, 56,39, H, 4,58, N, 5,99, F, 12,72, S, 6,92.

45 Ejemplo 4

Resolución óptica del compuesto del Ejemplo 3

La resolución se realizó 4 veces de la misma manera que en el Ejemplo 2, de manera que se obtuvieron 74 mg del isómero C como un sólido a partir de una fracción que contenía el Isómero C (t_R = 10 min), y se obtuvieron 71 mg del isómero D, como un sólido a partir de una fracción que contenía el isómero D (t_R = 11 min).

50 Isómero C: (+)-1-(2-hidroxiethyl)-4-metil-N-[4-(metilsulfonil)fenil]-5-[2-(trifluorometil)fenil]-1H-pirrol-3-carboxamida

$[\alpha]_D^{21}$: 7,1^o(C = 1,0, EtOH).

¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) δ: 7,91 (s, 1H), 7,87-7,79 (m, 5H), 7,67-7,58 (m, 2H), 7,51 (s, 1H), 7,35 (d, 1H, J = 7,0 Hz), 3,78-3,65 (m, 4H), 3,05 (s, 3H), 2,07 (s, 3H).

HR-MS (ESI) calculado para C₂₂H₂₂F₃N₂O₄S [M+H]⁺, m/z requerido: 467,1252, encontrado: 467,1260.

5 Tiempo de retención: 4,0 min.

Isómero D: (-)-1-(2-hidroxietyl)-4-metil-N-[4-(metilsulfonil)fenil]-5-[2-(trifluorometil)fenil]-1H-pirrol-3-carboxamida

$[\alpha]_D^{21}$: -7,2^o(C = 1,1, EtOH).

¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) δ: 7,88-7,79 (m, 6H), 7,67-7,58 (m, 2H), 7,50 (s, 1H), 7,36 (d, 1H, J = 7,5 Hz), 3,79-3,65 (m, 4H), 3,05 (s, 3H), 2,08 (s, 3H).

10 HR-MS (ESI) calculado para C₂₂H₂₂F₃N₂O₄S [M+H]⁺, m/z requerido: 467,1252, encontrado: 467,1257.

Tiempo de retención: 4,5 min.

Ejemplo 5

(+/-)-1-(2-hidroxietyl)-5-[4-metoxi-2-(trifluorometil)fenil]-4-metil-N-[4-(metilsulfonil)fenil]-1H-pirrol-3-carboxamida

El compuesto se sintetizó mediante el procedimiento descrito en el documento WO 2006/012642.

15 ¹H-RMN (500 MHz, CDCl₃) δ: 7,91 (2H, d, J = 8,3 Hz), 7,82 (2H, d, J = 8,3 Hz), 7,69 (1H, s), 7,46 (1H, s), 7,32 (1H, d, J = 2,0 Hz), 7,28-7,27 (1H, m), 7,14 (1H, dd, J = 8,3 y 2,0 Hz), 3,92 (3H, s), 3,82-3,66 (4H, m), 3,06 (3H, s), 2,10 (3H, s).

HR-MS (ESI) calculado para C₂₃H₂₄F₃N₂O₅S [M+H]⁺, m/z requerido: 497,1358, encontrado: 497,1361.

Ejemplo 6

Resolución óptica del compuesto del Ejemplo 5

20 La resolución se realizó 7 veces de la misma manera que en el Ejemplo 2, de manera que se obtuvieron 50 mg del isómero E como un sólido a partir de una fracción que contenía el isómero E (t_R = 11 min), y se obtuvieron 41 mg del isómero F como un sólido a partir de una fracción que contenía el isómero F (t_R = 14 min).

Isómero E: (-)-1-(2-hidroxietyl)-5-[4-metoxi-2-(trifluorometil)fenil]-4-metil-N-[4-(metilsulfonil)fenil]-1H-pirrol-3-carboxamida

$[\alpha]_D^{22}$: -1,3^o(c = 1,0, EtOH).

25 ¹H-RMN (500 MHz, CDCl₃) δ: 7,90 (2H, d, J = 8,3 Hz), 7,83-7,79 (3H, m), 7,48 (1H, s), 7,32 (1H, d, J = 2,4 Hz), 7,28-7,25 (1H, m), 7,14 (1H, dd, J = 8,3 y 2,4 Hz), 3,92 (3H, s), 3,81-3,65 (4H, m), 3,06 (3H, s), 2,09 (3H, s), 1,82 (1H, brs).

HR-MS (ESI) calculado para C₂₃H₂₄F₃N₂O₅S [M+H]⁺, m/z requerido: 497,1358, encontrado: 497,1359.

Tiempo de retención: 4,1 min.

Isómero F: (+)-1-(2-hidroxietyl)-5-[4-metoxi-2-(trifluorometil)fenil]-4-metil-N-[4-(metilsulfonil)fenil]-1H-pirrol-3-carboxamida

30 $[\alpha]_D^{23}$: 1,6^o(c = 0,8, EtOH).

¹H-RMN (500 MHz, CDCl₃) δ: 7,91 (2H, d, J = 8,8 Hz), 7,81 (2H, d, J = 8,8 Hz), 7,69 (1H, s), 7,46 (1H, s), 7,32 (1H, d, J = 2,4 Hz), 7,28-7,25 (1H, m), 7,14 (1H, dd, J = 8,3 y 2,4 Hz), 3,92 (3H, s), 3,82-3,66 (4H, m), 3,05 (3H, s), 2,09 (3H, s).

HR-MS (ESI) calculado para C₂₃H₂₄F₃N₂O₅S [M+H]⁺, m/z requerido: 497,1358, encontrado: 497,1340.

Tiempo de retención: 4,7 min.

35 Ejemplo de ensayo 1

Se construyó un plásmido pM-hMR-LBD que se obtiene mediante la unión de un dominio de unión de ligando (LBD, correspondiente a una región de aproximadamente 308 aminoácidos en el extremo carboxilo) de receptor de mineralocorticoides humano (hMR, NM_000901) a un dominio de unión a ADN (correspondiente a una región de 147 aminoácidos en el extremo amino) de un factor de transcripción de levadura GAL4 y que expresa el receptor GAL4-hMR. Usando un plásmido informador que tiene una secuencia que se une al dominio de unión a ADN de GAL4

40

(secuencia UAS) y que contiene un gen de luciferasa (tal como PFR-Luc, un plásmido disponible en Stratagene Cloning Systems), se realizó un ensayo de informador.

5 El plásmido pM-hMR-LBD obtenido previamente y el plásmido informador se transfectaron en una línea celular renal HEK293 obtenida de feto humano mediante el procedimiento de lipofección. Al día siguiente, las células se trataron con tripsina y se recogieron. Se preparó una placa de 96 pocillos blancos (fabricada por Costar, Inc.), y las células se dispensaron en cada pocillo en una cantidad de 95 μ l usando un medio DMEM que contenía 5% de FBS (suero fetal bovino), que había sido tratado con carbón activado.

10 Con relación a cada compuesto de ensayo, se usaron soluciones obtenidas mediante la disolución del compuesto de ensayo en dimetilsulfóxido a concentraciones predeterminadas, y las soluciones se diluyeron apropiadamente con medio y se añadieron a las células en la placa de 96 pocillos blancos para dar una concentración final del 0,1%. Cuando se añadió el compuesto de ensayo, se dejó presente aldosterona 1 nM. Un grupo de pocillos a los que se añadió sulfóxido de dimetilo fue asignado al grupo de control 1, y un grupo de pocillos a los que se añadió 1 nM aldosterona fue asignado el grupo de control 2. Después de la adición, la placa se incubó durante la noche.

15 Al día siguiente, se retiró el medio y se preparó un sustrato de luciferasa (Wako Pure Chemical Industries, Ltd.) según el prospecto del envase y se añadió a cada pocillo en una cantidad de 50 μ l y, a continuación, la placa se agitó durante aproximadamente 30 minutos. La intensidad de la luminiscencia de cada pocillo se midió usando Analyst (fabricado por Molecular Devices Corporation) y se tomó como la actividad de la luciferasa. El valor de la actividad de la luciferasa del grupo de control 1 se tomó como el 0%, el valor de la actividad de la luciferasa del grupo de control 2 se tomó como el 100%, y los valores relativos de la actividad de la luciferasa para las dosis respectivas del grupo de adición de compuesto de ensayo se trazaron para crear un gráfico. A partir del gráfico, el valor máximo se calculó como I_{max} (%), y la concentración del compuesto de ensayo que muestra el valor de $I_{max}/2$ se calculó como IC_{max50} (M). En la Tabla 1, se muestran los valores IC_{max50} .

20 (Resultados) Tal como se muestra en la Tabla 1 siguiente, el atropisómero de la invención mostró una notable actividad antagonista del receptor de mineralocorticoides, en comparación con el compuesto racémico correspondiente.

25

Tabla 1

Compuesto de ensayo	IC_{max50} (nM)	I_{max} (%)
Compuesto del Ejemplo 1	13	95
Isómero A	>1.000	N.D. ¹
Isómero B	2,6	123
Compuesto del Ejemplo 3	5,3	105
Isómero C	>1.000	N.D. ¹
Isómero D	2,4	99
Compuesto del Ejemplo 5	5,3	97
Isómero E	1,8	115
Isómero F	>1.000	N.D. ¹
¹ : No determinado		

Ejemplo de Ensayo 2

30 Se usaron monos Cynomolgus (machos), y los monos se mantuvieron en ayunas desde un día antes de la administración del compuesto de ensayo. La muestra de administración se preparó añadiendo una solución de 0,5% de MC (metil celulosa) al compuesto de ensayo, de manera que la dosis era de 3 mg/2 ml/kg. Cada muestra de administración se administró al estómago del mono cynomolgus usando un tubo. Después de administrar la muestra, se administraron aproximadamente 5 ml de agua. Cada muestra de administración se administró a tres monos cynomolgus en un grupo.

35 Con relación a la recogida de sangre, se recogió aproximadamente 1 ml de sangre de la vena femoral antes de la administración, y 30 minutos y 1, 2, 4, 6, 8, 24 y 48 horas después de la administración usando una jeringa de

inyección tratada con heparina. La sangre recogida se centrifugó (15.000 xg, 3 min, 4°C) para obtener plasma. El plasma obtenido se almacenó en un congelador (-20°C) hasta el pretratamiento. Preparación de la solución estándar y la solución estándar interna (IS): Cada compuesto de ensayo se disolvió en acetonitrilo, de manera que se preparó una solución de 1 mg/ml de cada compuesto de ensayo. Se preparó una solución estándar diluyendo cada solución de compuesto con acetonitrilo. Además, se disolvió warfarina de sodio (Wako Pure Chemical Industries, Ltd.) en acetonitrilo para preparar una solución IS de 500 ng/ml.

Pretratamiento de la muestra de plasma: Se tomaron 50 µl de la muestra de plasma y se añadieron a la misma 50 µl de acetonitrilo. Para una curva de calibración, se añadieron 50 µl de cada solución estándar (solución de acetonitrilo) a 50 µl del plasma en blanco. A todas las muestras, se añadieron 150 µL de la solución de acetonitrilo IS, y la mezcla se agitó y, a continuación, se centrifugó (aproximadamente 1.800 xg, 30 min, 4°C). Después de realizar la filtración con una placa Sirocco de precipitación de proteínas (Waters Corporation), el filtrado se diluyó apropiadamente con una fase móvil para preparar una muestra de análisis LC-MS/MS.

Determinación del compuesto de ensayo: La concentración en plasma de cada compuesto de ensayo se analizó mediante el procedimiento LC-MS/MS.

15 Condiciones del análisis HPLC

HPLC: Serie LC-10Avp: Promience (Shimadzu Corporation)

Columna: X-Bridge RP18, 2,0 mm I.D. x 50 mm, 2,5 µm (Waters Corporation)

Fase móvil: A = solución de formiato de amonio acuoso 10 mM, B = acetonitrilo

Condiciones de análisis MS/MS

20 MS: API 4000 (AB/MDS SCIEX, Inc.)

Procedimiento de ionización: Turbo pulverización de iones (positivos o negativos)

Modo de ionización: Ionización química a presión atmosférica (APCI)

Modo de detección: MRM

25 Análisis: Se calculó un parámetro farmacocinético a partir de la concentración en plasma de cada agente usando WinNonlin Professional (Ver. 4.0.1, Pharsight Corporation). Incidentalmente, se usó el modelo Noncompartment como un modelo para el cálculo del parámetro.

30 (Resultados) Se evaluaron los compuestos del Ejemplo 1, Isómero B del Ejemplo 2, Ejemplo 3, Isómero D del Ejemplo 4, Ejemplo 5 e Isómero E del Ejemplo 6. Como resultado, tal como se muestra en la Tabla 2, el isómero B, el Isómero D y el Isómero E, que son atropisómeros con alta actividad demostrada en el Ejemplo de ensayo 1 mejoraron considerablemente la concentración en plasma en comparación con los compuestos del Ejemplo 1, Ejemplo 3 y Ejemplo 5, que son los compuestos racémicos correspondientes, respectivamente.

Tabla 2

Compuesto de ensayo	AUC ¹ (ng.h/ml)	Cmax ² (ng/ml)
Ejemplo 1	860	42
Isómero B	3.496	184
Ejemplo 3	33	2
Isómero D	7.187	681
Ejemplo 5	7.667	380
Isómero E	26.390	1.330
¹ : AUC (ng-h/ml): Área bajo la concentración en plasma (medida mediante el procedimiento LC-MS/MS) versus la curva de tiempo (0-48h); ² : Cmax (ng/ml): concentración máxima		

(Ejemplo de formulación 1) Cápsula

Isómero B	50,0 mg
Lactosa	128,7
Almidón de maíz	70,0
Estearato de magnesio	1,3
	<hr/>
	250 mg

El polvo de la formulación anterior se mezcló y, después de pasar la mezcla a través de un tamiz de malla 60, el polvo se rellenó en una cápsula de gelatina N° 3 de 250 mg para preparar una cápsula.

5 (Ejemplo de preparación 2) Comprimido

Isómero D	50,0 mg
Lactosa	124,0
Almidón de maíz	25,0
Estearato de magnesio	1,0
	<hr/>
	200 mg

El polvo de la formulación anterior se mezcló y se conformó en comprimidos con una máquina de formación de comprimidos para preparar un comprimido (200 mg por comprimido).

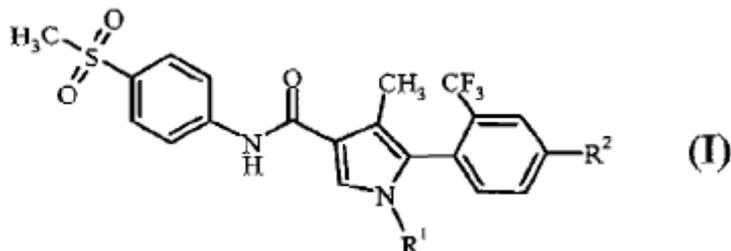
Aplicabilidad industrial

- 10 El atropisómero de un compuesto que tiene la fórmula general (I) de la invención muestra actividades farmacológicas particularmente excelentes, tal como una actividad antagonista del receptor de mineralocorticoides, una actividad antihipertensiva, una actividad vasodilatadora, una actividad cardioprotectora, una actividad inhibidora de la nefropatía, una actividad antiarteriosclerótica y una actividad diurética, y también es altamente seguro, por lo tanto, es útil como un agente profiláctico o terapéutico para la hipertensión, angina de pecho, síndrome coronario agudo, insuficiencia cardiaca congestiva, nefropatía, arteriosclerosis, infarto cerebral, fibrosis o aldosteronismo primario.
- 15

REIVINDICACIONES

1. Un atropisómero de un compuesto representado por la fórmula general (I) siguiente:

5



10 en la que R¹ es un grupo metilo o un grupo 2-hidroxietilo; y R² es un átomo de hidrógeno o un grupo metoxi, seleccionado de entre:

(-)-1-(2-hidroxietil)-4-metil-N-[4-(metilsulfonyl)fenil]-5-[2-(trifluorometil)fenil]-1H-pirrol-3-carboxamida,

(+)-1,4-dimetil-N-[4-(metilsulfonyl)fenil]-5-[2-(trifluorometil)fenil]-1H-pirrol-3-carboxamida; y

(-)-1-(2-hidroxietil)-5-[4-metoxi-2-(trifluorometil)fenil]-4-metil-N-[4-(metilsulfonyl)fenil]-1H-pirrol-3-carboxamida.

15 2. Atropisómero según la reivindicación 1, que es

(-)-1-(2-hidroxietil)-4-metil-N-[4-(metilsulfonyl)fenil]-5-[2-(trifluorometil)fenil]-1H-pirrol-3-carboxamida;

3. Atropisómero según la reivindicación 1, que es

(+)-1,4-dimetil-N-[4-(meti-sulfonyl)fenil]-5-[2-(trifluorometil)fenil]-1H-pirrol-3-carboxamida;

4. Atropisómero según la reivindicación 1, que es

20 (-)-1-(2-hidroxietil)-5-[4-metoxi-2-(trifluorometil)fenil]-4-metil-N-[4-(metilsulfonyl)fenil]-1H-pirrol-3-carboxamida;

5. Un producto farmacéutico, que comprende el atropisómero según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 como un ingrediente activo.

6. Un agente profiláctico o terapéutico para una enfermedad cardiovascular, que comprende el atropisómero según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 como un ingrediente activo.

25 7. Un agente profiláctico o terapéutico para la hipertensión, que comprende el atropisómero según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 como un ingrediente activo.

8. Una composición farmacéutica que comprende el atropisómero según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 y un vehículo farmacológicamente aceptable.