(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 533 434**

(51) Int. CI.:

C07D 207/08 (2006.01)
C07D 401/12 (2006.01)
A61K 31/40 (2006.01)
A61P 11/00 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.10.2011 E 11773367 (5)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **31.12.2014 EP 2627630**

(54) Título: **Inhibidores de la captación de la serotonina**

(30) Prioridad:

11.10.2010 US 391758 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
10.04.2015

(73) Titular/es:

THERAVANCE BIOPHARMA R&D IP, LLC (100.0%)
901 Gateway Boulevard
South San Francisco, CA 94080, US

(72) Inventor/es:

STANGELAND, ERIC L.;
PATTERSON, LORI JEAN y
SAITO, DAISUKE ROLAND

(74) Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

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

Inhibidores de la captación de la serotonina

CAMPO DE LA INVENCIÓN

La presente invención se refiere a compuestos de 3-(sulfonil-1-fenoxietil)pirrolidina y 3-(sulfonil-1-fenoxipropil)pirrolidina que tienen actividad como inhibidores de la captación de la serotonina (5-HT) y, en una realización, que tienen la característica de estar selectivamente restringidos desde el sistema nervioso central. La invención también se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden dichos compuestos, procesos y productos intermedios para preparar dichos compuestos. La invención encuentra utilidad en métodos de uso de dichos compuestos para tratar la hipertensión arterial pulmonar y otras dolencias.

ESTADO DE LA TÉCNICA

El aumento progresivo de la resistencia vascular pulmonar (RVP) restringe el flujo sanguíneo y provoca hipertensión arterial pulmonar (HAP), que, en última instancia, conduce a la insuficiencia cardiaca derecha y a la muerte. La HAP incluye la hipertensión pulmonar primaria y la hipertensión pulmonar asociada a enfermedades vasculares del colágeno, derivaciones sistémico-pulmonares congénitas, hipertensión portal e infección por VIH. Las causas del aumento de la RVP incluyen vasoconstricción y remodelado vascular (aumento de la proliferación/migración/fibrosis de las VSMC y estrechamiento de la luz vascular). El objetivo del tratamiento es mejorar los síntomas y la capacidad para realizar ejercicio y, en última instancia, la supervivencia. Los tratamientos farmacológicos actuales incluyen el tratamiento con prostanoides, con bloqueadores del canal del calcio, con antagonistas de los receptores de la endotelina y con inhibidores de la PDE-5. Desafortunadamente, estos fármacos normalmente solo proporcionan un beneficio sintomático. Por lo tanto, existe una necesidad no cubierta de fármacos que puedan afectar a la progresión de la enfermedad de HAP.

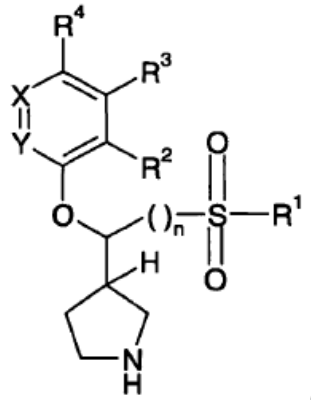
Hay evidencia preclínica de un papel tanto de la serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT) como del transportador de la serotonina (SERT) en la HAP. El SERT está altamente expresado en el pulmón humano y la 5-HT, a través de la interacción con el SERT, estimula la proliferación de las células del músculo liso vascular pulmonar humanas (HPVSM). Los efectos proliferativos de 5-HT son exagerados en el HPVSM de los pacientes con HAP. Se ha observado que los inhibidores selectivos de la captación de la serotonina (SSRI) previenen o invierten la HAP en modelos animales (Zhu *et al*. (2009) “Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology” 36(8): e1-e5), y la sobreexpresión y deficiencia del SERT aumenta y disminuye la susceptibilidad a la HAP inducida por hipoxia en ratones, respectivamente (Shah *et al.* (2009) “Chest” 136(3):694-700). El documento WO 2010/011811 y *Bioorg. & Med. Chem. Lett.* 17(7), 2022-2025 describen inhibidores de la captación de la 5-HT.

Si bien existen numerosos SSRI disponibles en el mercado, la mayoría están dirigidos a tratar enfermedades tales como la depresión, la ansiedad y otras afecciones mentales y, por lo tanto, están diseñados para entrar principalmente en el sistema nervioso central (SNC). Desafortunadamente, esta actividad del SNC a menudo se asocia con efectos adversos tales como náuseas, distracción sexual, insomnio, somnolencia y ansiedad. El tratamiento de enfermedades tales como la HAP no requiere la actividad del SNC. Por lo tanto, es deseable diseñar un agente terapéutico que tenga actividad de inhibición del SERT aún siendo periféricamente selectivo, pudiéndose así evitar o reducir los efectos secundarios mediados a nivel central. La presente invención se dirige a esa necesidad.

SUMARIO DE LA INVENCIÓN

La presente invención proporciona nuevos compuestos que han resultado poseer actividad de inhibición de la captación de la serotonina. En una realización, los compuestos de la invención son periféricamente selectivos, de modo que existen predominantemente en la periferia, en comparación con el sistema nervioso central. Por consiguiente, cabe esperar que los compuestos de la invención sean útiles y ventajosos como agentes terapéuticos para aquellas enfermedades y trastornos que se pueden tratar mediante la inhibición del transportador de la serotonina en ausencia de la actividad del SNC, tal como para el tratamiento de la hipertensión arterial pulmonar (HAP) y el tratamiento antiplaquetario.

Un aspecto de la invención se refiere a un compuesto de fórmula I:



(I)

donde:

X e Y son -CH-, o X es -CH- e Y es -N-, o X es -N- e Y es -CH-;

R^1 se selecciona entre -alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con 1 a 5 grupos seleccionados entre halo, $-NHC(O)CH_3$ y $-C(O)NHCH_3$; -cicloalquilo C_{3-6}; -alquilen C_{1-2}-OR; -alquilen C_{1-2}-COOR; -alquilen C_{0-3}-fenilo opcionalmente sustituido con $-NHC(O)CH_3$ o $-C(O)NHCH_3$; y -alquilen C_{0-3}-piridilo; donde R se selecciona entre hidrógeno y -alquilo C_{1-3};

R^2 se selecciona entre hidrógeno, -alquilo C_{1-6} y -O-alquilo C_{1-6};

R^3 se selecciona entre hidrógeno, halo y ciano;

R^4 se selecciona entre halo; -alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con 1 a 5 átomos de flúor; -O-alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con 1 a 5 átomos de flúor; -alquilen C_{0-1}-fenilo; -O-alquilen C_{0-3}-fenilo; $-SO_2$-alquilo C_{1-6}; $-C(O)NH_2$; y $-NO_2$; y n es 1 o 2; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Otro aspecto de la invención se refiere a compuestos de fórmula I que tienen una configuración seleccionada entre las fórmulas a, a', b, b', c, c', d y d'; o enriquecidos en una forma estereoisomérica que tiene dicha configuración.

Otro aspecto más de la invención se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden un vehículo farmacéuticamente aceptable y un compuesto de la invención. Dichas composiciones pueden contener opcionalmente otros agentes activos. Por consiguiente, en otro aspecto más de la invención, una composición farmacéutica comprende un compuesto de la invención, un segundo agente activo y un vehículo farmacéuticamente aceptable. Otro aspecto de la invención se refiere a una combinación de agentes activos, que comprende un compuesto de la invención y un segundo agente activo. El compuesto de la invención se puede formular junto con o por separado de uno o varios agentes adicionales. Cuando se formula por separado, se puede incluir un vehículo farmacéuticamente aceptable con el/los agente/s adicional/es. Por lo tanto, otro aspecto más de la invención se refiere a una combinación de composiciones farmacéuticas, combinación que comprende: una primera composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y un primer vehículo farmacéuticamente aceptable; y una segunda composición farmacéutica que comprende un segundo agente activo y un segundo vehículo farmacéuticamente aceptable. La invención también se refiere a un kit que contiene dichas composiciones farmacéuticas, por ejemplo, donde las primera y segunda composiciones farmacéuticas son composiciones farmacéuticas separadas.

Los compuestos de la invención poseen actividad de inhibición de la captación de la serotonina y, por lo tanto, se espera que sean útiles como agentes terapéuticos para el tratamiento de pacientes que padecen una enfermedad o un trastorno que se trata mediante la inhibición del transportador de la serotonina, principalmente en la periferia en comparación con el SNC. Por lo tanto, un aspecto de la invención encuentra utilidad en un método para tratar una enfermedad seleccionada entre hipertensión arterial pulmonar, trastornos gastrointestinales, cáncer, artritis reumatoide, osteoartritis, osteoporosis y diabetes, que comprende administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la invención. En un aspecto específico, la invención encuentra utilidad en un método de tratamiento de la hipertensión arterial pulmonar. Otro aspecto de la invención encuentra utilidad en un método de tratamiento de un paciente que está en necesidad de tratamiento antiplaquetario, que comprende administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la invención.

Otro aspecto más de la invención encuentra utilidad en un método de inhibición de la captación de la serotonina en un mamífero que comprende administrar al mamífero una cantidad inhibidora del transportador de la serotonina de un compuesto de la invención.

Entre los compuestos de fórmula I, son compuestos de particular interés aquellos que tienen un valor pCI_{50} de inhibición de la captación de la serotonina $\geq$ 5,0, particularmente aquellos que tienen un $pCI_{50} \geq 7,0$, e incluso más concretamente los que tienen un $pCI_{50} \geq 8,0$.

Dado que los compuestos de la invención poseen actividad inhibidora de la captación de la serotonina, también son útiles como herramientas de investigación. Por consiguiente, un aspecto de la invención encuentra utilidad en un método de uso de un compuesto de la invención como herramienta de investigación, que comprende la realización de un ensayo biológico usando un compuesto de la invención. Los compuestos de la invención también se pueden usar para evaluar nuevos compuestos químicos. Así pues, otro aspecto de la invención se refiere a un método de evaluación de un compuesto de ensayo en un ensayo biológico, que comprende: (a) realizar un ensayo biológico con un compuesto de ensayo para proporcionar un primer valor de ensayo; (b) realizar el ensayo biológico con un compuesto de la invención para proporcionar un segundo valor de ensayo; en el que la etapa (a) se realiza bien antes, después o simultáneamente a la etapa (b); y (c) comparar el primer valor de ensayo de la etapa (a) con el segundo valor de ensayo de la etapa (b). Los ensayos biológicos de ejemplo incluyen un ensayo de la captación de la serotonina. Otro aspecto más de la invención se refiere a un método de estudio de un sistema biológico o muestra que comprende transportadores de la serotonina, comprendiendo el método: (a) poner en contacto el sistema biológico o la muestra con un compuesto de la invención; y (b) determinar los efectos causados por el compuesto en el sistema biológico o en la muestra.

La invención también se refiere a procesos y productos intermedios útiles para preparar compuestos de la invención. Por consiguiente, un aspecto de la invención se refiere a un proceso de preparación de un compuesto de fórmula I, proceso que comprende desproteger un compuesto de fórmula II para proporcionar un compuesto de fórmula I, o una sal del mismo, donde n, y R^1, R^3 y R^4 son como se definen para el compuesto de fórmula I, y P es un grupo protector de amino.
aspecto de la invención, dichos nuevos productos intermedios tienen la fórmula de II, como se define en el presente documento.

Otro aspecto más de la invención se refiere al uso de compuestos de la invención para la fabricación de medicamentos, especialmente para la fabricación de medicamentos útiles para el tratamiento de la hipertensión arterial pulmonar, para el tratamiento antiplaquetario o para la inhibición de la captación de la serotonina en un mamífero. Otro aspecto más de la invención se refiere al uso de compuestos de la invención como herramientas de investigación. En el presente documento, se desvelan otros aspectos y realizaciones de la invención.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

DEFINICIONES

Cuando se describen los compuestos, las composiciones, los métodos y los procesos de la invención, los siguientes términos y expresiones tienen los siguientes significados, a menos que se indique lo contrario. Además, como se usan en el presente documento, la formas en singular "un", una", "el" y "la" incluyen las correspondientes formas en plural, a menos que el contexto en el que se usen dicte claramente lo contrario. Las expresiones "que comprende", "que incluye" y "que tiene" pretenden ser inclusivas, y significan que puede haber otros elementos adicionales distintos a los elementos enumerados. Se ha de entender que todos los números que expresan cantidades de ingredientes, propiedades tales como el peso molecular, condiciones de reacción, etcétera, usados en el presente documento, están modificados, en todos los casos, por el término "aproximadamente", a no ser que se indique lo contrario. Por consiguiente, los números expuestos en el presente documento son aproximaciones que pueden variar dependiendo de las propiedades deseadas que se pretendan obtener mediante la presente invención. Al menos, y sin pretender limitar la aplicación de la doctrina de equivalentes al alcance de las reivindicaciones, cada número se ha de interpretar, al menos, teniendo en cuenta los dígitos significativos indicados y mediante la aplicación de las técnicas de redondeo habituales.

El término "alquilo" significa un grupo hidrocarburo monovalente saturado que puede ser lineal o ramificado. A no ser que se defina lo contrario, dichos grupos alquilo normalmente contienen de 1 a 10 átomos de carbono, e incluyen, por ejemplo, -alquilo C_{1-2}, -alquilo C_{1-3}, -alquilo C_{1-4}, -alquilo C_{1-6} y -alquilo C_{1-8}. Los grupos alquilo representativos incluyen, a modo de ejemplo, metilo, etilo, *n*-propilo, isopropilo, *n*-butilo, *sec*-butilo, isobutilo, *terc*-butilo, *n*-pentilo, *n*-hexilo, *n*-heptilo, *n*-octilo, *n*-nonilo, *n*-decilo y similares.

El término "alquileno" significa un grupo hidrocarburo divalente saturado que puede ser lineal o ramificado. A menos que se defina lo contrario, dichos grupos alquileno contienen normalmente de 0 a 10 átomos de carbono, e incluyen, por ejemplo, -alquileno C_{0-1}-, -alquileno C_{0-3}- y -alquileno C_{1-2}-. Los grupos alquileno representativos incluyen, a modo de ejemplo: metileno, etileno, propileno, $-(CH_2)_3-$ y -alquileno C_3 ramificado tal como $-CH(CH_3)-CH_2-$; butileno, $-(-CH_2)_4-$ y -alquileno C_4 ramificado tal como $-CH(CH_3)-(CH_2)_2-$ y $-CH_2-CH(CH_3)-CH_2-$; pentileno, $-(CH_2)_5-$ y -alquileno C_5 ramificado tal como $-CH(CH_3)-(CH_2)_3-$ y $-CH_2-C(CH_3)_2-CH_2-$; y similares. Se entiende que cuando el término alquileno incluye cero carbonos tales como -alquileno C_{0-1}- o -alquileno C_{0-3}-, dichos términos pretenden incluir la ausencia de átomos de carbono, es decir, el grupo alquileno no está presente a excepción de un enlace covalente que une los grupos separados por el término alquileno.

Cuando se pretende un número específico de átomos de carbono para un determinado término usado en el presente documento, el número de átomos de carbono se indica detrás del término como un subíndice. Por ejemplo, el

término "-alquilo C_{1-6}" significa un grupo alquilo con de 1 a 6 átomos de carbono, y el término "-alquileno C_{1-2}" significa un grupo alquileno que tiene de 1 a 2 átomos de carbono, en el que los átomos de carbono están en cualquier configuración aceptable.

El término "cicloalquilo" significa un grupo hidrocarburo carbocíclico saturado monovalente. A menos que se defina lo contrario, dichos grupos cicloalquilo normalmente contienen de 3 a 10 átomos de carbono, e incluyen, por ejemplo, -cicloalquilo C_{3-6}. Los grupos cicloalquilo representativos incluyen, a modo de ejemplo, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo y similares.

El término "halo" significa flúor, cloro, bromo y yodo.

Como se usa en el presente documento, la expresión "que tiene la fórmula" o "que tiene la estructura" no pretende ser limitante, y se usa del mismo modo en que la expresión "que comprende" se usa habitualmente.

La expresión "farmacéuticamente aceptable" se refiere a un material que no es inaceptable ni a nivel biológico ni de otro modo cuando se usa en la invención. Por ejemplo, la expresión "vehículo farmacéuticamente aceptable" se refiere a un material que se puede incorporar en una composición y administrarse a un paciente sin provocar efectos biológicos inaceptables ni interaccionar de una forma inaceptable con otros componentes de la composición. Dichos materiales farmacéuticamente aceptables normalmente cumplen los estándares necesarios de los ensayos toxicológicos y de elaboración, e incluyen aquellos materiales identificados como principios inactivos adecuados por la Administración de Alimentos y Fármacos (AAF).

La expresión "sal farmacéuticamente aceptable" significa una sal preparada a partir de una base o un ácido, que es aceptable para su administración a un paciente, tal como un mamífero (por ejemplo, sales que tienen una seguridad aceptable en mamíferos para una pauta de dosificación dada). Sin embargo, se entiende que no es necesario que las sales englobadas por la invención sean sales farmacéuticamente aceptables, tales como sales de compuestos intermedios que no se pretenden administrar a un paciente. Las sales farmacéuticamente aceptables se pueden derivar de bases inorgánicas u orgánicas farmacéuticamente aceptables y de ácidos inorgánicos u orgánicos farmacéuticamente aceptables. Además, cuando un compuesto de fórmula I contiene tanto un resto básico, tal como una amina, como un resto ácido, tal como un ácido carboxílico, se pueden formar zwitteriones, que se incluyen en el término "sal" como se usa en el presente documento. Las sales derivadas de bases inorgánicas farmacéuticamente aceptables incluyen las sales de amonio, calcio, cobre, férricas, ferrosas, de litio, magnesio, mangánicas, manganosas, de potasio, sodio, cinc y similares. Las sales derivadas de bases orgánicas farmacéuticamente aceptables incluyen las sales de aminas primarias, secundarias y terciarias, incluyendo aminas sustituidas, aminas cíclicas, aminas naturales y similares, tales como arginina, betaína, cafeína, colina, *N,N'*-dibenciletilendiamina, dietilamina, 2-dietilaminoetanol, 2-dimetilaminoetanol, etanolamina, etilendiamina, *N*-etilmorfolina, *N*-etilpiperidina, glucamina, glucosamina, histidina, hidrabamina, isopropilamina, lisina, metilglucamina, morfolina, piperazina, piperadina, resinas de poliamina, procaína, purinas, teobromina, trietilamina, trimetilamina, tripropilamina, trometamina y similares. Las sales derivadas de ácidos inorgánicos farmacéuticamente aceptables incluyen las sales de los ácidos bórico, carbónico, halídricos (bromhídrico, clorhídrico, fluorhídrico o yodhídrico), nítrico, fosfórico, sulfámico y sulfúrico. Las sales derivadas de ácidos orgánicos farmacéuticamente aceptables incluyen sales de ácidos hidroxilo alifáticos (por ejemplo, ácidos cítrico, glucónico, glicólico, láctico, lactobiónico, málico y tartárico), ácidos monocarboxílicos alifáticos (por ejemplo, ácidos acético, butírico, fórmico, propiónico y trifluoroacético), aminoácidos (por ejemplo, ácidos aspártico y glutámico), ácidos carboxílicos aromáticos (por ejemplo, ácidos benzoico, *p*-clorobenzoico, difenilacético, gentísico, hipúrico y trifenilacético), ácidos aromáticos hidroxilo (por ejemplo, ácidos *o*-hidroxibenzoico, *p*-hidroxibenzoico, 1-hidroxinaftalen-2-carboxílico y 3-hidroxinaftalen-2-carboxílico), ácido ascórbico, ácidos dicarboxílicos (por ejemplo, ácidos fumárico, maleico, oxálico y succínico), ácidos glucurónico, mandélico, múcico, nicotínico, orótico, pamoico, pantoténico, sulfónicos (por ejemplo, ácidos bencenosulfónico, canforsulfónico, edisílico, etanosulfónico, isetiónico, metanosulfónico, naftalensulfónico, naftalen-1,5-disulfónico, naftalen-2,6-disulfónico y *p*-toluenosulfónico), ácido xinafoico y similares.

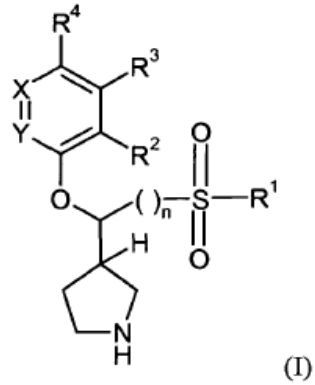
La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" significa una cantidad suficiente para efectuar un tratamiento cuando se administra a un paciente en necesidad del mismo, es decir, la cantidad de fármaco necesaria para obtener el efecto terapéutico deseado. Por ejemplo, una cantidad terapéuticamente eficaz para el tratamiento de la hipertensión arterial pulmonar es una cantidad de compuesto necesaria para, por ejemplo, reducir, suprimir, eliminar o prevenir los síntomas de la hipertensión arterial pulmonar o para tratar la causa subyacente de la hipertensión arterial pulmonar. Por otro lado, la expresión "cantidad eficaz" significa una cantidad suficiente para obtener un resultado deseado, que no tiene que ser necesariamente un resultado terapéutico. Por ejemplo, cuando se estudia un sistema que comprende un transportador de la serotonina, una "cantidad eficaz" puede ser la cantidad necesaria para inhibir la captación de la serotonina.

El término "tratar" o "tratamiento", como se usa en el presente documento, significa tratar o el tratamiento de una enfermedad o afección (tal como la hipertensión arterial pulmonar) en un paciente, tal como un mamífero (en particular, un ser humano) , que incluye: (a) evitar la aparición de la enfermedad o afección, es decir, el tratamiento profiláctico de un paciente; (b) mejorar la enfermedad o afección, es decir, eliminar o causar la regresión de la enfermedad o afección en un paciente; (c) suprimir la enfermedad o afección, es decir, ralentizar o detener el

desarrollo de la enfermedad o afección en un paciente; o (d) aliviar los síntomas de la enfermedad o afección en un paciente. Por ejemplo, la expresión "tratamiento de la hipertensión arterial pulmonar" incluiría la prevención de la hipertensión arterial pulmonar, la mejora de la hipertensión arterial pulmonar, la supresión de la hipertensión arterial pulmonar y el alivio de los síntomas de la hipertensión arterial pulmonar. El término "paciente" pretende incluir aquellos mamíferos, tales como los seres humanos, que tienen necesidad de tratamiento o de prevención de una enfermedad, que actualmente están siendo tratados para la prevención de una enfermedad o el tratamiento de una enfermedad o afección específica, así como los sujetos de ensayo en los que se están evaluando los compuestos de la invención o se están usando en un ensayo, por ejemplo, un modelo animal.

Se pretende que el resto de términos que se usan en el presente documento posean su significado habitual entendido por los expertos en la materia a la que se refieren.

En un aspecto, la presente invención se refiere a nuevos compuestos de fórmula I:



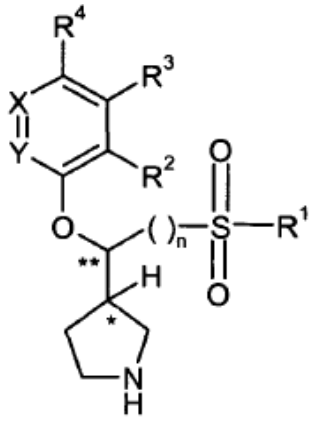
(I)

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

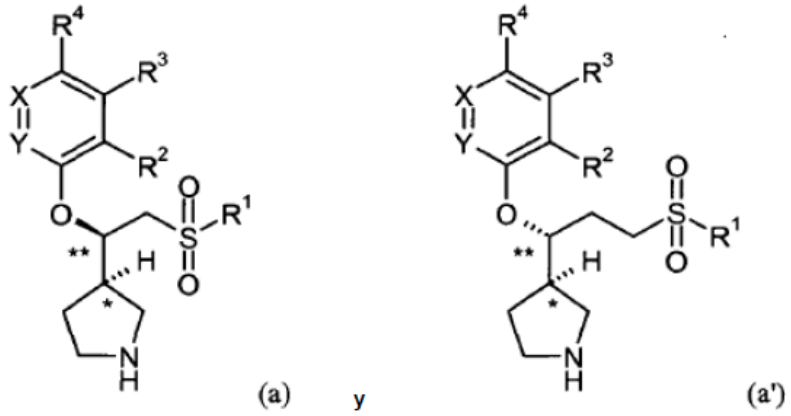
Como se usa en el presente documento, la expresión "compuesto de la invención" incluye todos los compuestos englobados por la fórmula I, tales como las especies representadas en fórmulas a-h, a'-h', II, III y IV, y el resto de subespecies de dichas fórmulas. Además, cuando el compuesto de la invención contiene un grupo básico o ácido (por ejemplo, grupos amino o carboxilo), el compuesto puede existir como una base libre, ácido libre o en diversas formas salinas. La totalidad de dichas formas salinas está incluida dentro del alcance de la invención. Por consiguiente, los expertos en la materia reconocerán que la referencia a un compuesto en el presente documento, por ejemplo, la referencia a un "compuesto de la invención" o a un "compuesto de fórmula I", incluye un compuesto de fórmula I, así como sales farmacéuticamente aceptables de ese compuesto, a menos que se indique lo contrario. Además, se incluyen dentro del alcance de la presente invención los solvatos de los compuestos de fórmula I.

Los compuestos de fórmula I contienen al menos dos centros quirales y, por lo tanto, estos compuestos se pueden preparar y usar en diversas formas estereoisoméricas. Por consiguiente, la invención también se refiere a mezclas racémicas, estereoisómeros puros (por ejemplo, enantiómeros y diastereoisómeros), mezclas enriquecidas con estereoisómeros y similares, a no ser que se indique lo contrario. Cuando una estructura química se representa en el presente documento sin ninguna estereoquímica, se entiende que todos los posibles estereoisómeros están englobados por dicha estructura. Así pues, por ejemplo, se pretende que las expresiones "compuesto de fórmula I", "compuestos de fórmula II," y así sucesivamente, incluyan todos los posibles estereoisómeros del compuesto. De manera similar, cuando, en el presente documento, se muestra o nombra un determinado estereoisómero, los expertos en la materia entenderán que puede haber cantidades menores de otros estereoisómeros en las composiciones de la invención, a menos que se indique lo contrario, siempre que no se elimine la utilidad de la composición en su conjunto por la presencia de dichos otros isómeros. Los enantiómeros individuales se pueden obtener mediante numerosos métodos que son bien conocidos en la técnica, incluyendo la síntesis estereoespecífica, cromatografía quiral usando una fase o un soporte estacionario quiral adecuado, o convirtiéndolos químicamente en diastereoisómeros, separando los diastereoisómeros mediante medios convencionales tales como cromatografía o recristalización y, a continuación, regenerando los enantiómeros originales. Además, cuando sea aplicable, se incluyen todos los isómeros *cis*/*trans* o *E/Z* (isómeros geométricos), formas tautoméricas y formas tipoisoméricas de los compuestos de la invención dentro del alcance de la invención, a menos que se especifique lo contrario.

Más específicamente, los compuestos de fórmula I contienen al menos dos centros quirales indicados por los símbolos * y ** en la fórmula siguiente:

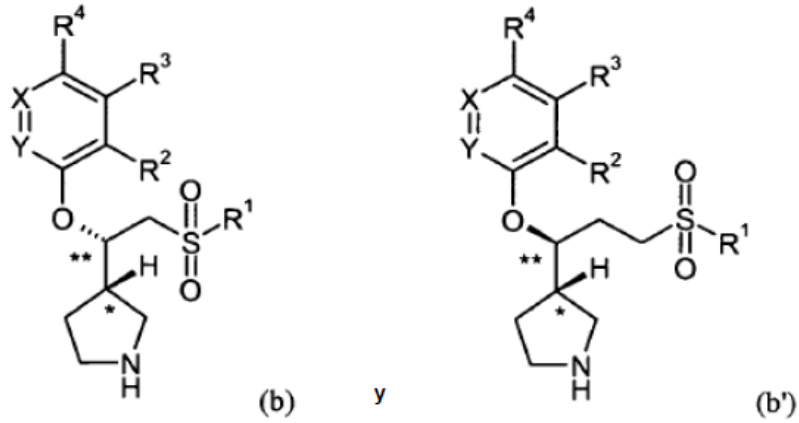


donde X, Y, R^1, R^2, R^3, R^4 y n son como se han definido para la fórmula I. En un estereoisómero, ambos átomos de carbono identificados por los símbolos * y ** tienen la configuración (*R*). Esta realización de la invención se muestra en la fórmula a (para n = 1) y la fórmula a' (para n = 2):



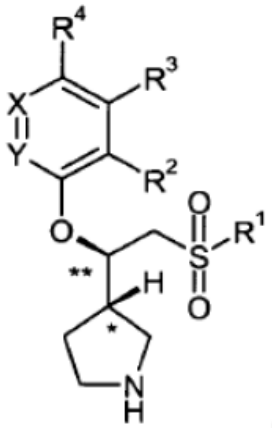
En esta realización, los compuestos tienen la configuración (*R,R*) en los átomos de carbono * y ** o están enriquecidos en una forma estereoisomérica que tenga la configuración (*R,R*) en estos átomos de carbono.

En otro estereoisómero, ambos átomos de carbono identificados por los símbolos * y ** tienen la configuración (*S*). Esta realización de la invención se muestra en la fórmula b (para n = 1) y la fórmula b' (para n = 2):

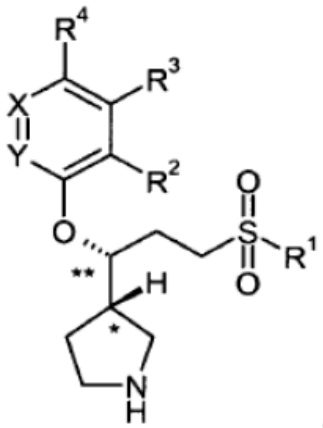


En esta realización, los compuestos tienen la configuración (*S,S*) en los átomos de carbono * y ** o están enriquecidos en una forma estereoisomérica que tiene la configuración (*S,S*) en estos átomos de carbono.

En otro estereoisómero más, el átomo de carbono identificado por el símbolo * tiene la configuración (*S*) y el átomo de carbono identificado por el símbolo ** tiene la configuración (*R*). Esta realización de la invención se muestra en la fórmula c (para n = 1) y la fórmula c' (para n = 2):



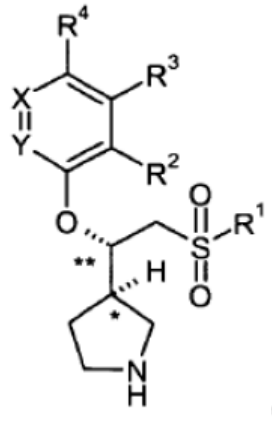
(c) y



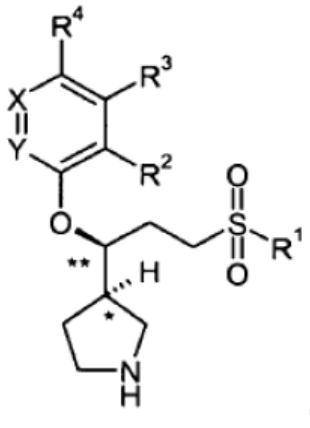
(c')

En esta realización, los compuestos tienen la configuración (*S,R*) en los átomos de carbono * y ** o están enriquecidos en una forma estereoisomérica que tiene la configuración (*S,R*) en estos átomos de carbono.

En otro estereoisómero más, el átomo de carbono identificado por el símbolo * tiene la configuración (*R*) y el átomo de carbono identificado por el símbolo ** tiene la configuración (*S*). Esta realización de la invención se muestra en la fórmula d (para n = 1) y la fórmula d' (para n = 2):



(d) y



(d')

En esta realización, los compuestos tienen la configuración (*R,S*) en los átomos de carbono * y ** o están enriquecidos en una forma estereoisomérica que tiene la configuración (*R,S*) en estos átomos de carbono.

Los compuestos de fórmula a y b son enantiómeros y, por lo tanto, en aspectos separados, la presente invención se refiere a cada enantiómero individual (es decir, a o b), una mezcla racémica de a y b, o una mezcla de enantiómeros enriquecida en a y b que comprende predominantemente a o predominantemente b. Del mismo modo, los compuestos de fórmula c y d son enantiómeros y, por lo tanto, en aspectos separados, la presente invención se refiere a cada enantiómero individual (es decir, c o d), una mezcla racémica de c y d, o una mezcla de enantiómeros enriquecida en c y d que comprende predominantemente c o predominantemente d.

En algunas realizaciones, para optimizar la actividad terapéutica de los compuestos de la invención, por ejemplo, para tratar la hipertensión arterial pulmonar, puede ser deseable que los átomos de carbono identificados por los símbolos * y ** tengan una determinada configuración (*R,R*), (*S,S*), (*S,R*) o (*R,S*) o estén enriquecidos en una forma estereoisomérica que tenga dicha configuración. Por ejemplo, en una realización, los compuestos de la invención tienen la configuración (*S,R*) de fórmula c o están enriquecidos en una forma estereoisomérica que tiene la configuración (*S,R*), y en otra realización, los compuestos de la invención tienen la configuración (*R,S*) de fórmula d, o están enriquecidos en una forma estereoisomérica que tiene la configuración (*R,S*). En otras realizaciones, los compuestos de la invención están presentes como mezclas racémicas, por ejemplo, como una mezcla de enantiómeros de fórmula a y b, o como una mezcla de enantiómeros de fórmula c y d.

Los compuestos de la invención, así como los compuestos usados en su síntesis también pueden incluir compuestos marcados isotópicamente, es decir, donde uno o más átomos han sido enriquecidos con átomos que tienen una masa atómica diferente de la masa atómica predominantemente encontrada en la naturaleza. Los

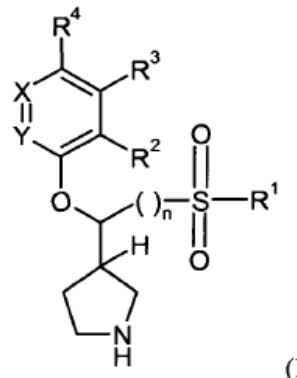
ejemplos de isótopos que se pueden incorporar en los compuestos de fórmula I incluyen, por ejemplo, pero sin limitación, ^{2}H, ^{3}H, ^{13}C, ^{14}C, ^{15}N, ^{18}O, ^{17}O, ^{35}S, ^{36}Cl y ^{18}F. Son de particular interés los compuestos de fórmula I enriquecidos en tritio o carbono 14 que se pueden usar, por ejemplo, en estudios de distribución tisular; los compuestos de fórmula I enriquecidos en deuterio especialmente en un sitio de metabolismo que dan lugar, por ejemplo, a compuestos que tienen una mayor estabilidad metabólica; y a compuestos de fórmula I enriquecida en un isótopo emisor de positrones, tal como ^{11}C, ^{18}F, ^{15}O y ^{13}N, que se puede usar, por ejemplo, en estudios de tomografía por emisión de positrones (PET).

La nomenclatura usada en el presente documento para nombrar los compuestos de la invención se ilustra en los ejemplos del presente documento. Esta nomenclatura se ha obtenido usando el software AutoNom disponible en el mercado (MDL, San Leandro, California).

REALIZACIONES REPRESENTATIVAS

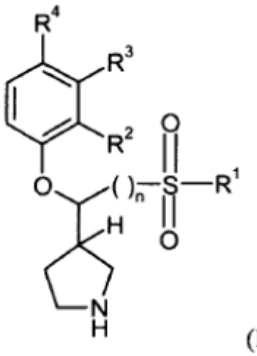
Los siguientes sustituyentes y valores están destinados a proporcionar ejemplos representativos de diversos aspectos y realizaciones de la invención. Estos valores representativos pretenden definir e ilustrar adicionalmente dichos aspectos y realizaciones, y no pretenden excluir otras realizaciones ni limitar el alcance de la invención. En este sentido, la representación de que se prefiere un determinado valor o sustituyente no pretende, de ninguna manera, excluir otros valores o sustituyentes de la invención a menos que se indique específicamente.

En un aspecto, la presente invención se refiere a compuestos de fórmula I:

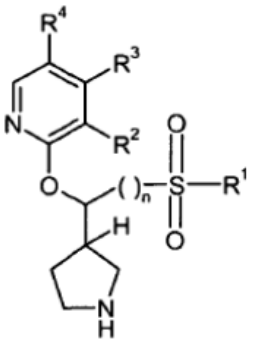


(I)

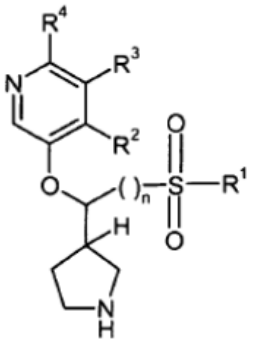
X e Y son -CH-, o X es -CH- e Y es -N-, o X es -N- e Y es -CH-. Estas realizaciones se pueden representar como fórmulas Ia, Ib e Ic, respectivamente:



(Ia),



(Ib) y



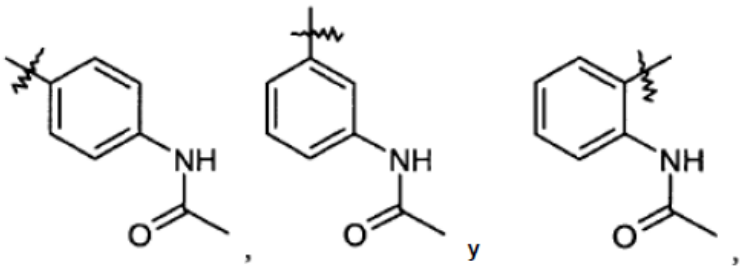
(Ic).

En una realización particular, X e Y son -CH-.

El número entero "n" puede ser 1 o 2. En una realización particular, n es 1.

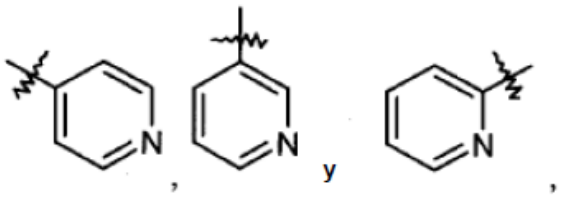
El resto R^1 se selecciona entre -alquilo C_{1-6}, -cicloalquilo C_{3-6}, -alquilen C_{1-2}-OR, -alquilen C_{1-2}-COOR, -alquilen C_{0-3}-fenilo y -alquilen C_{0-3}-piridilo. El resto R se selecciona entre hidrógeno y -alquilo C_{1-3}. El grupo -alquilo C_{1-6} de R^1 está opcionalmente sustituido con 1 a 5 grupos seleccionados entre halo, $-NHC(O)CH_3$ y $-C(O)NHCH_3$. El grupo fenilo de R^1 está opcionalmente sustituido con $-NHC(O)CH_3$ o $-C(O)NHCH_3$.

En una realización, R^1 es -alquilo C_{1-6}, cuyos ejemplos incluyen metilo, etilo, isopropilo, *n*-butilo, y *t*-butilo. En otra realización, R^1 es -alquilo C_{1-6} sustituido con 1 a 5 átomos de halógeno, cuyos ejemplos incluyen $-CF_3$ y $-CF_2CF_3$. En otra realización, -alquilo C_{1-6} está sustituido con un grupo $-NHC(O)CH_3$ o un grupo $-C(O)NHCH_3$, cuyos ejemplos incluyen $-(CH_2)_2NHC(O)CH_3$ y $-(CH_2)_3NHC(O)CH_3$. En otra realización más, R^1 es -cicloalquilo C_{3-6}, cuyos ejemplos incluyen ciclopropilo y ciclopentilo. En una realización, R^1 es -alquilen C_{1-2}-OR, cuyos ejemplos incluyen $-(CH_2)_2OH$ (R = H) y $-(CH_2)OCH_3$ (R = metilo). En una realización, R^1 es -alquilen C_{1-2}-COOR, cuyos ejemplos incluyen $-(CH_2)C(O)OCH_3$ (R = metilo) y $-(CH_2)C(O)OCH_2CH_3$ (R = etilo). En una realización, R^1 es -alquilen C_{0-3}-fenilo, es decir, fenilo y bencilo. En otra realización, R^1 es -alquilen C_{0-3}-fenilo donde el fenilo está sustituido con $-NHC(O)CH_3$ o $-C(O)NHCH_3$, cuyos ejemplos incluyen 4-fenilacetamida, 3-fenilacetamida y 2-fenilacetamida, representadas como:



y

respectivamente. En una realización, R^1 es -alquilen C_{0-3}-piridilo, cuyos ejemplos incluyen 4-piridilo, 4-piridilo y 4-piridilo, representados como:



y

respectivamente.

En una realización particular, R^1 se selecciona entre metilo, etilo, isopropilo, $-(CH_2)_2NHC(O)CH_3$, $-(CH_2)_2OH$, $-(CH_2)C(O)OCH_3$, fenilo, 4-fenilacetamida y 4-piridilo. En una realización particular, R^1 es metilo.

El resto R^2 se selecciona entre hidrógeno, -alquilo C_{1-6} y -O-alquilo C_{1-6}. En una realización, R^2 es hidrógeno. En otra realización, R^2 es -alquilo C_{1-6}, por ejemplo $-CH_3$. En otra realización más, R^2 es -O-alquilo C_{1-6}, por ejemplo, $-OCH_3$.

El resto R^3 se selecciona entre hidrógeno, halo y ciano. En una realización, R^3 es hidrógeno. En una realización, R^3 es halo, cuyos ejemplos incluyen cloro y flúor. En una realización, R^3 es ciano. En una realización particular, R^3 se selecciona entre hidrógeno y ciano. En una realización particular, R^3 es hidrógeno.

El resto R^4 se selecciona entre halo, -alquilo C_{1-6}, -alquilo C_{1-6} sustituido con 1 a 5 átomos de flúor, -O-alquilo C_{1-6}, -O-alquilo C_{1-6} sustituido con 1 a 5 átomos de flúor, -alquilen C_{0-1}-fenilo, -O-alquilen C_{0-3}-fenilo, $-SO_2$-alquilo C_{1-6}, $-C(O)NH_2$ y $-NO_2$. En una realización, R^4 es halo, cuyos ejemplos incluyen cloro y flúor. En una realización, R^4 es -alquilo C_{1-6}, cuyos ejemplos incluyen metilo, etilo, isopropilo, *n*-butilo y *t*-butilo. En una realización, R^4 es -alquilo C_{1-6} sustituido con 1 a 5 átomos de flúor, cuyos ejemplos incluyen $-CH_2F$, $-CHF_2$, $-CF_3$ y $-CF_2CF_3$. En una realización, R^4 es -O-alquilo C_{1-6}, cuyos ejemplos incluyen $-OCH_3$ y $-OCH_2CH_3$. En una realización, R^4 es -O-alquilo C_{1-6} sustituido con 1 a 5 átomos de flúor, cuyos ejemplos incluyen $-OCH_2F$, $-OCHF_2$, $-OCF_3$ y $-OCF_2CF_3$. En una realización, R^4 es -alquilen C_{0-1}-fenilo, es decir, fenilo y bencilo. En una realización, R^4 es -O-alquilen C_{0-3}-fenilo, cuyos ejemplos incluyen -O-fenilo y $-O-CH_2$-fenilo. En una realización, R^4 es $-SO_2$-alquilo C_{1-6}, cuyos ejemplos incluyen $-SO_2-CH_3$ y $-SO_2-CH_2CH_3$. En una realización, R^4 es $-C(O)NH_2$. En una realización, R^4 es $-NO_2$.

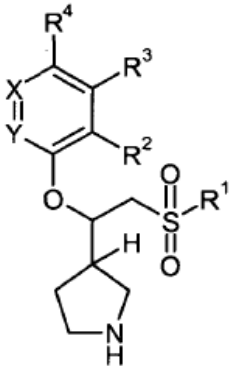
En una realización particular, R^4 se selecciona entre halo, -alquilo C_{1-6} sustituido con 1 a 5 átomos de flúor, -O-alquilo C_{1-6} sustituido con 1 a 5 átomos de flúor y $-NO_2$. En una realización particular, R^4 es $-CF_3$.

En una realización particular, las combinaciones de R^3 y R^4 son las siguientes, donde R^2 es hidrógeno:

R^3	R^4
H	$-CF_3$
H	$-OCF_3$
H	$-NO_2$

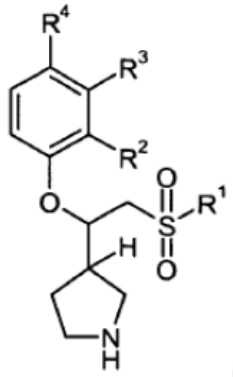
-CN	Cl
-CN	$-CF_3$

En una realización particular, n es 1, y X, Y, R^1, R^2, R^3 y R^4, son como se han definido para la fórmula I. Esto se puede representar como la fórmula III:

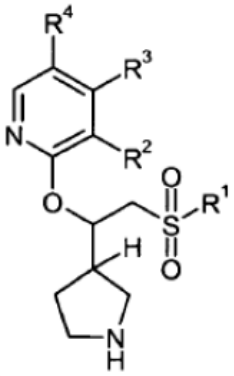


(III)

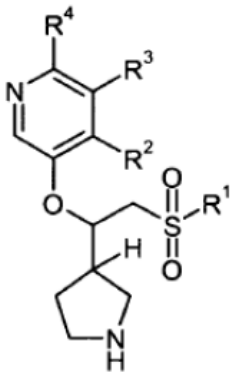
Las realizaciones específicas incluyen las fórmulas IIIa, IIIb y IIIc:



(IIIa),

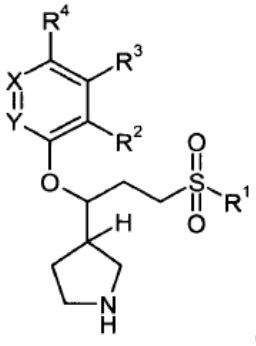


(IIIb) y



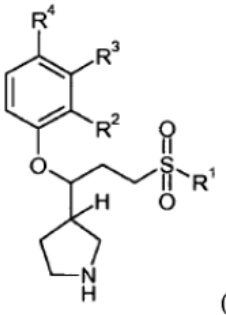
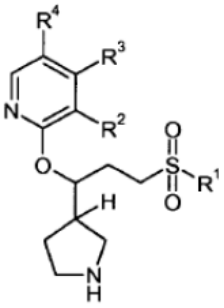
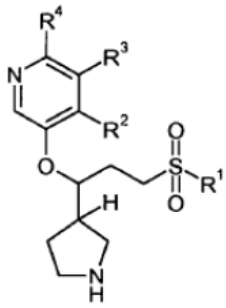
(IIIc).

En otra realización particular, n es 2, y X, Y, R^1, R^2, R^3 y R^4 son como se han definido en la fórmula I. Esto se puede representar como la fórmula IV:



(IV)

Las realizaciones específicas incluyen las fórmulas IVa, IVb y IVc:


(IVa),

(IVb) y

(IVc).

En una realización, R^1 se selecciona entre -alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con $-NHC(O)CH_3$; -alquilen C_{1-2}-OR; -alquilen C_{1-2}-COOR; fenilo opcionalmente sustituido con $-NHC(O)CH_3$; y -piridilo; donde R se selecciona entre hidrógeno y -alquilo C_{1-3}; R^2 se selecciona entre hidrógeno, -alquilo C_{1-6} y -O-alquilo C_{1-6}; R^3 se selecciona entre hidrógeno y ciano; R^4 se selecciona entre halo; -alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con 1 a 5 átomos de flúor; -O-alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con 1 a 5 átomos de flúor; y $-NO_2$; y n es 1 o 2.

En otra realización, X es -CH- e Y es -N-; R^1 es -alquilo C_{1-6}; R^2 es hidrógeno; R^3 es hidrógeno; R^4 se selecciona entre halo y -alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con 1 a 5 átomos de flúor; y n es 1.

En otra realización más, X es -N- e Y es -CH-; R^2 es hidrógeno; R^1 es -alquilo C_{1-6}; R^3 es hidrógeno; R^4 se selecciona entre halo y -alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con 1 a 5 átomos de flúor; y n es 1.

Además, los compuestos particulares de fórmula I que son de interés incluyen los expuestos en los ejemplos que se presentan más adelante, así como una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

PROCEDIMIENTOS SINTÉTICOS GENERALES

Los compuestos de la invención se pueden preparar a partir de materiales de partida que se pueden obtener fácilmente usando los siguientes métodos generales, los procedimientos expuestos en los Ejemplos, o usando otros métodos, reactivos y materiales de partida que son conocidos por los expertos en la materia. Aunque los siguientes procedimientos pueden ilustrar una realización particular de la invención, se entiende que otras realizaciones de la invención se pueden preparar de forma similar usando los mismos o métodos similares, o usando otros métodos, reactivos y materiales de partida conocidos por los expertos habituales en la materia. También se apreciará que donde se dan las condiciones de proceso normales o preferidas (es decir, temperaturas de reacción, tiempos, relaciones molares de reactivos, disolventes, presiones, etc.), también se pueden usar otras condiciones de proceso, a menos que se indique lo contrario. Aunque, normalmente, las condiciones óptimas de reacción variarán dependiendo de diversos parámetros de reacción tales como los reactivos, disolventes y cantidades usados en particular, los expertos habituales en la materia pueden determinar fácilmente las condiciones de reacción adecuadas usando los procedimientos de optimización habituales.

Además, como será evidente para los expertos en la materia, se pueden necesitar o desear grupos protectores convencionales para impedir que determinados grupos funcionales experimenten reacciones no deseadas. La elección de un grupo protector adecuado para un determinado grupo funcional, así como de las condiciones y los reactivos adecuados para la protección y la desprotección de dichos grupos funcionales, es bien conocida en la técnica. Si se desea, se pueden usar grupos protectores distintos de los ilustrados en los procedimientos descritos en el presente documento. Por ejemplo, en Greene y Wuts, “Protecting Groups in Organic Synthesis”, IV Edición, Wiley, Nueva York, 2006, y las referencias citadas en el mismo, se describen numerosos grupos protectores y su introducción y eliminación.

Más particularmente, en los esquemas que figuran a continuación, P representa un "grupo protector de amino", un término usado en el presente documento para designar a un grupo protector adecuado para evitar las reacciones no deseadas en un grupo amino. Los grupos protectores de amino representativos incluyen, pero sin limitación, *t*-butoxicarbonilo (BOC), tritilo (Tr), benciloxicarbonilo (Cbz), 9-fluorenilmetoxicarbonilo (Fmoc), formilo, bencilo y similares. Las técnicas de desprotección convencionales y los reactivos tales como TFA en DCM o HCl en 1,4-dioxano, metanol o etanol, se usan para eliminar grupos protectores, cuando están presentes. Por ejemplo, un grupo BOC se puede eliminar mediante un reactivo ácido tal como ácido clorhídrico, ácido trifluoroacético y similares; mientras que un grupo Cbz se puede eliminar mediante el empleo de condiciones de hidrogenación catalíticas, tales como H_2 (1 atm), Pd/C al 10 % en un disolvente alcohólico.

Los diluyentes inertes o disolventes adecuados para su uso en estos sistemas incluyen, a modo de ilustración y no de limitación, tetrahidrofurano (THF), acetonitrilo, *N,N*-dimetilformamida (DMF), dimetilsulfóxido (DMSO), tolueno, diclorometano (DCM), cloroformo ($CHCl_3$), y similares.

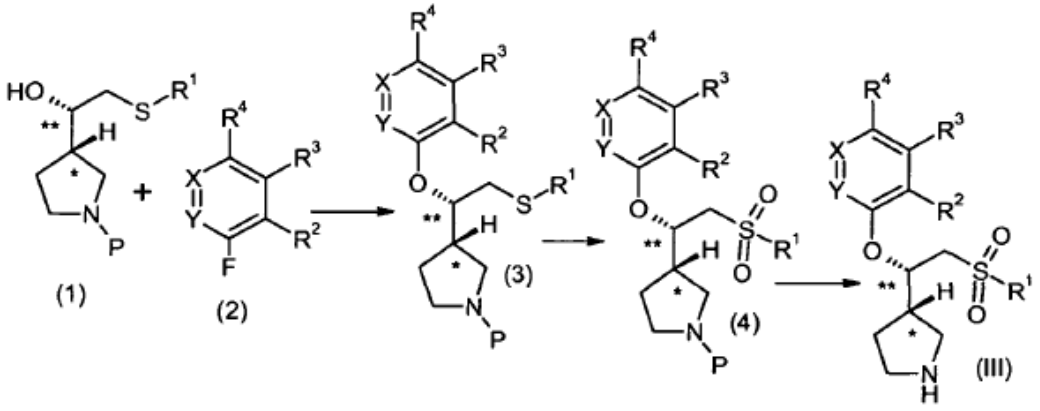
Por lo general, todas las reacciones se realizan a una temperatura en el intervalo de aproximadamente -78 ºC a 110 ºC, por ejemplo, a temperatura ambiente. Las reacciones se pueden controlar mediante el uso de cromatografía de capa fina (TLC), cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) y/o LCMS hasta su finalización. Las reacciones se pueden completar en minutos, pueden tardar horas, normalmente de 1-2 horas y hasta 48 horas, o días, tal como hasta 3-4 días. Una vez completadas, se puede seguir tratando el producto de reacción o la mezcla resultante para obtener el producto deseado. Por ejemplo, el producto de reacción o la mezcla resultante se puede someter a uno o más de los siguientes procedimientos: dilución (por ejemplo, con $NaHCO_3$ saturado); extracción (por ejemplo, con acetato de etilo, $CHCl_3$, DCM, HCl acuoso); lavado (por ejemplo, con DCM, NaCl acuoso saturado o $NaHCO_3$ acuoso saturado); secado (por ejemplo, sobre $MgSO_4$ o Na_2SO_4 o al vacío); filtración; concentración (por ejemplo, al vacío); redisolución (por ejemplo, en una solución de ácido acético:H_2O (1:1)); y/o purificación (por ejemplo, mediante HPLC preparativa o HPLC preparativa de fase inversa).

A modo ilustrativo, los compuestos de fórmula I, así como sus sales, se pueden preparar mediante los siguientes esquemas, así como mediante los procedimientos expuestos en los ejemplos. En algunos casos, se infirieron los centros quirales * y ** del epóxido protegido y del alcohol protegido, basándose en la etapa de resolución cinética hidrolítica. Como alternativa, la asignación de la estereoquímica se puede realizar utilizando el análisis de éster de Mosher establecido del alcohol intermedio (véase, por ejemplo, Dale y Mosher (1969) *J. Org. Chem.* 34 (9): 2543-2549).

Mientras que los siguientes esquemas pueden ilustrar la formación de un determinado estereoisómero, los otros estereoisómeros se pueden preparar de una manera similar mediante el uso de un material de partida que tenga la estereoquímica apropiada. Del mismo modo, mientras que los siguientes esquemas pueden ilustrar la obtención de una mezcla de diastereoisómeros, la mezcla se puede separar de manera que solo se obtenga uno de los estereoisómeros.

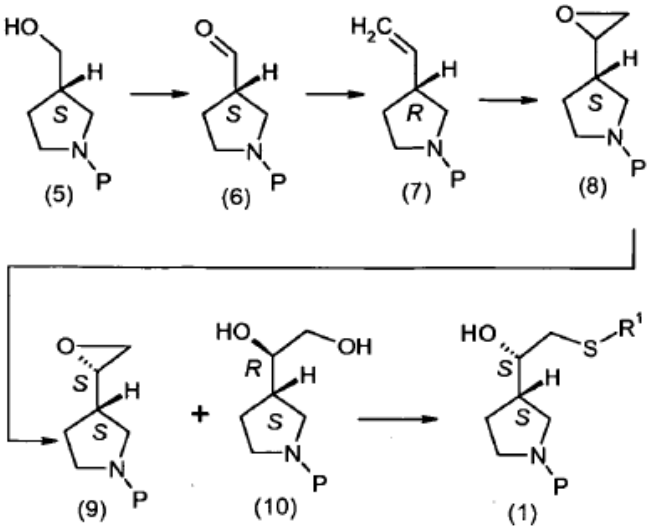
Los compuestos de fórmula III (fórmula I en la que n es 1) se pueden preparar como se describe en el Esquema I:

Esquema I



Los compuestos de fórmula III se pueden preparar haciendo reaccionar el alcohol 1 con el arilo o fluoruro de heteroarilo 2 apropiado usando una reacción de sustitución nucleófila aromática (S_NAr) para producir el compuesto 3. Esta reacción se lleva a cabo normalmente usando hidruro de sodio (NaH) en un disolvente tal como DMF. A continuación, el compuesto 3 se oxida, proporcionando la sulfona protegida 4, que se desprotege para producir el compuesto deseado de fórmula III. La oxidación normalmente se realiza con un agente oxidante tal como peroxomonosulfato de potasio en agua y metanol.

Compuesto 1



El aldehído 6 se puede preparar mediante la oxidación mediada por el radical libre 2,2,6,6-tetrametil-1-piperidiniloxi (TEMPO) del alcohol 5. El alcohol 5, donde P es Boc o bencilo, está disponible en el mercado. Como alternativa, el aldehído 6 se puede preparar mediante la oxidación del alcohol 5 usando cualquier agente oxidante adecuado para convertir un alcohol primario en un aldehído. Los agentes oxidantes representativos incluyen, por ejemplo, sulfóxido de dimetilo, reactivo de Collin, reactivo de Corey, dicromato de piridinio, y similares.

La olefinación del aldehído 6 mediante una reacción de Wittig proporciona el alqueno 7. Los reactivos de Wittig ilustrativos incluyen bromuro de metiltrifenilfosfonio. A esta etapa, le sigue la epoxidación del alqueno usando un catalizador de transferencia de oxígeno tal como metiltrioxorrenio (VII) y peróxido de hidrógeno como oxidante terminal para formar el compuesto 8.

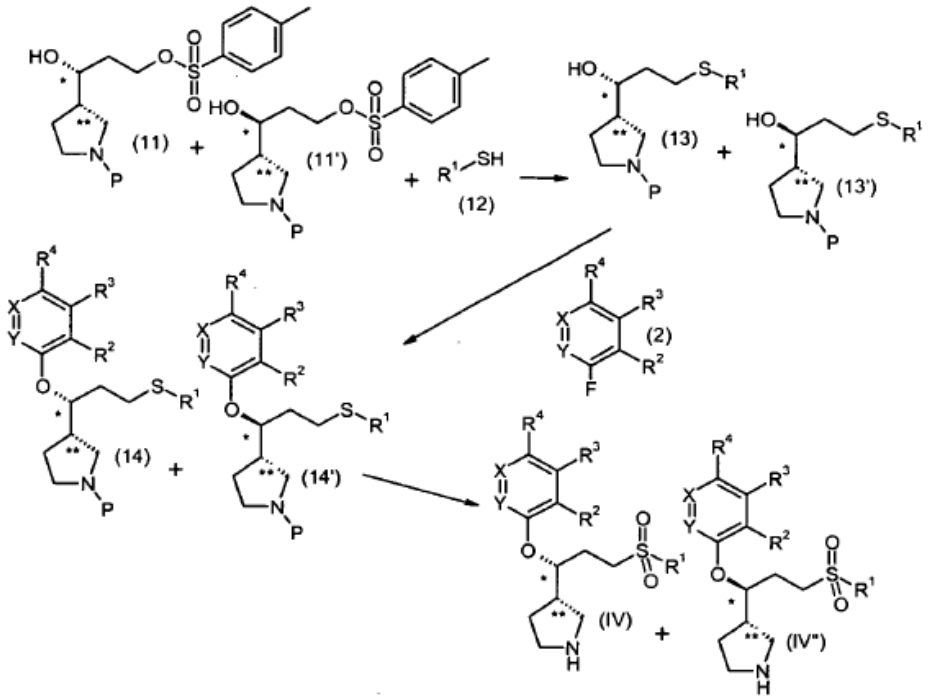
A continuación, se somete el compuesto 8 a resolución cinética hidrolítica para formar los compuestos 9 y 10, que después se separan, proporcionando el epóxido 9 como un solo isómero. La etapa final incluye la apertura del epóxido 9 usando una reacción de sustitución nucleófila para formar el compuesto 1. Los ejemplos de nucleófilos adecuados incluyen $NaSR^1$ (por ejemplo, metilmercáptido de sodio, donde R^1 es metilo). Esta reacción normalmente se lleva a cabo usando un disolvente tal como THF.

Compuesto 2

El compuesto 2 se encuentra disponible en el mercado o se puede preparar mediante técnicas que son conocidas en la materia. Los ejemplos de compuesto 2 incluyen 1-fluoro-4-trifluorometilbenceno, 5-fluoro-2-trifluorometilbenzonitrilo y 1-fluoro-4-nitrobenceno.

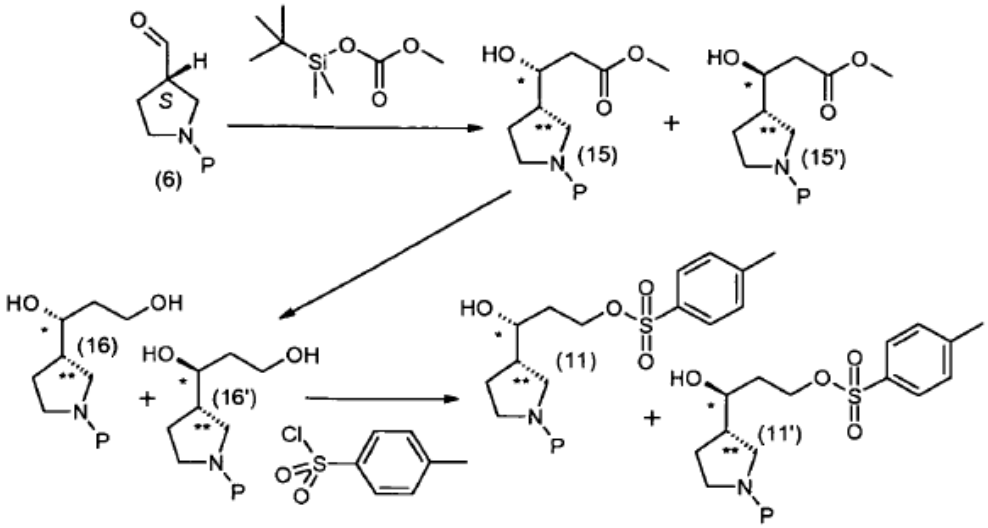
Los compuestos de fórmula IV (fórmula I donde n es 2) se pueden preparar según lo descrito en el Esquema II:

Esquema II



La primera etapa incluye el desplazamiento del tosilato de los ésteres de tosilato 11 y 11' con el compuesto 12, que tiene la fórmula R^1-SH, en un disolvente adecuado tal como acetonitrilo, proporcionando los alcoholes 13 y 13'. Los ejemplos de compuesto 12 incluyen bencenotiol. A continuación, se hacen reaccionar los alcoholes 13 y 13' con el fluoruro de arilo 2 apropiado, usando una reacción de sustitución aromática nucleófila (S_NAr) para producir los compuestos 14 y 14'. Después, se oxidan los compuestos 14 y 14', proporcionando la sulfona protegida, que se desprotege para producir los compuestos deseados de fórmula (IV) y (IV').

Compuestos 11 y 11'

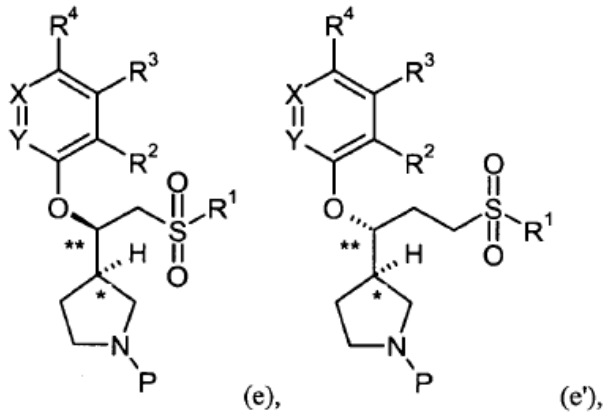


La primera etapa de la preparación del compuesto 6 es la reacción de adición aldólica de Mukaiyama entre el aldehído 6 y un sililenoléter, proporcionando los ésteres 15 y 15' como una mezcla de diastereoisómeros. Esta reacción es catalizada por un ácido de Lewis, por ejemplo, trifluoruro de boro, cloruro de aluminio o tetracloruro de estaño. Un sililenol ilustrativo es 1-(*t*-butildimetilsililoxi)-1-metoxieteno, como se muestra en el esquema. A continuación, se reducen los ésteres 15 y 15', formando los dioles 16 y 16', en un disolvente adecuado tal como tetrahidrofurano. En una realización, el agente reductor es tetrahidroaluminato de litio. La siguiente etapa incluye convertir el grupo hidroxilo de los dioles 16 y 16' en un grupo saliente. Por ejemplo, los dioles 16 y 16' pueden someterse a tosilación con un reactivo apropiado tal como cloruro de *p*-toluenosulfonilo (TsCl) en una base

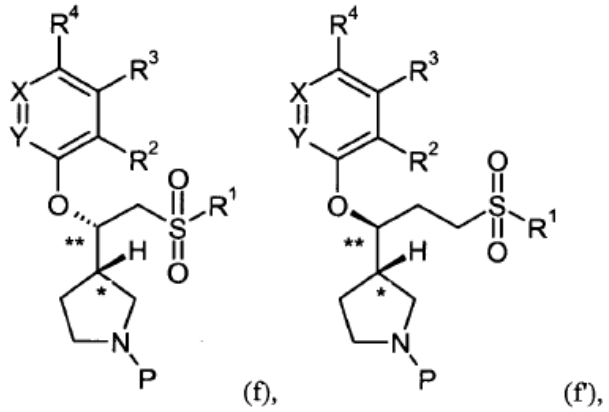
adecuada tal como trietilendiamina, para formar los ésteres de tosilato 11 y 11'. Véase, por ejemplo, Hartung *et al.* (1997) "Synthesis" 12:1433-1438. Como alternativa, los compuestos 16 y 16' se puede combinar con anhídrido metanosulfónico en *N,N*-diisopropiletilamina.

Si se desea, las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de fórmula I se pueden preparar poniendo en contacto la forma de ácido o base libre de un compuesto de fórmula I con una base o un ácido farmacéuticamente aceptable.

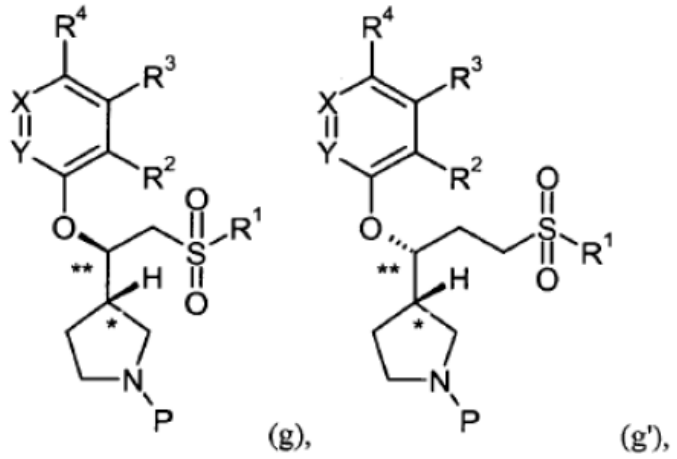
Se cree que algunos de los compuestos intermedios descritos en el presente documento son nuevos y, por consiguiente, dichos compuestos se proporcionan como aspectos adicionales de la invención, incluyendo, por ejemplo, los compuestos de fórmulas e, e', f, f', g, g', h o h':



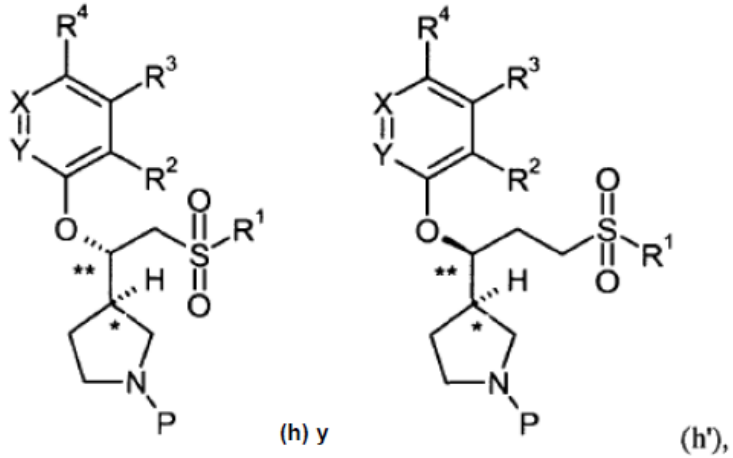
(e), (e'),



(f), (f'),

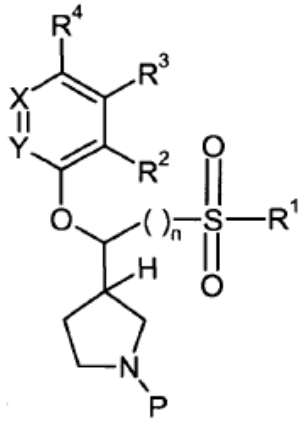


(g), (g'),



(h) y (h'),

donde X, Y, R^1, R^2, R^3, R^4 y n son como se han definido para la fórmula I; y P representa un grupo protector de amino, en particular, *t*-butoxicarbonilo (BOC). En una realización de la invención, los compuestos de la invención se pueden preparar mediante la desprotección de un compuesto de fórmula II:



(II)

donde X, Y, R^1, R^2, R^3, R^4 y n son como se han definido para la fórmula I, y P representa un grupo protector de amino, para proporcionar un compuesto de fórmula I o una sal del mismo. En una realización particular, dichos compuestos no protegidos tienen las fórmulas e, e', f, f', g, g', h o h'.

En los ejemplos que se exponen en el presente documento, se describen más detalles relativos a las condiciones de reacción específicas y a otros procedimientos para preparar los compuestos representativos de la invención o compuestos intermedios de los mismos.

Utilidad

Los compuestos de la invención poseen actividad inhibidora de la captación de la serotonina, y en una realización, a potencias nanomolares. Por lo tanto, estos compuestos tienen utilidad terapéutica como inhibidores de la captación de la serotonina. En una realización, los compuestos de la invención actúan principalmente como inhibidores de la captación de la serotonina y, por lo tanto, solo presentan una actividad mínima o subterapéutica como inhibidores de la captación de la norepinefrina y/o inhibidores de la captación de la dopamina.

La constante de inhibición (K_i) de un compuesto es la concentración de ligando en un ensayo de inhibición de la unión del radioligando que ocuparía el 50 % de los transportadores si no hubiera ningún radioligando presente. Los valores de K_i se pueden determinar a partir de estudios de unión de radioligando con ^{3}H-citalopram como se describe en el Ensayo 1. Estos valores de K_i se obtienen de los valores de CI_{50} en el ensayo de unión usando la ecuación de Cheng-Prusoff y la K_d del radioligando (Cheng y Prusoff (1973) *Biochem. Pharmacol.* 22 (23): 3099-3108). Los valores de CI_{50} funcionales se pueden determinar en la inhibición funcional de ensayos de captación descritos en el Ensayo 2. Estos valores de CI_{50} se pueden convertir en valores K_i usando la ecuación de Cheng-Prusoff y la K_m del transmisor para el transportador. Sin embargo, cabe señalar que las condiciones del ensayo de captación descritas en el Ensayo 2 son tales que los valores de CI_{50} están muy cerca de los valores de K_i, si se desea una conversión matemática, ya que la concentración de 5-HT usada en el ensayo está muy por debajo de su K_m para el transportador.

Una medida de la afinidad de un compuesto hacia el SERT es la constante de inhibición (pK_i) para la unión al transportador. El valor de pK_i es el logaritmo negativo en base 10 de K_i. Los compuestos de la invención de particular interés son los que tienen una pK_i hacia SERT superior o igual a 5,0, en particular los que tienen una pK_i hacia SERT superior o igual a 7,0, e incluso más particularmente los que tienen una pK_i hacia SERT superior o igual a 8,0. Otra medida de la inhibición de la captación de la serotonina es el valor de pCI_{50}. En una realización, los compuestos de interés son los que tienen un valor de pCI_{50} de inhibición de la captación de la serotonina superior o igual a 5,0, particularmente los que tienen un valor de pCI_{50} superior o igual a 7,0, e incluso más particularmente los que tienen un valor de pCI_{50} superior o igual a 8.0. Dichos valores se pueden determinar mediante técnicas que son bien conocidas en la materia, así como en los ensayos descritos en el presente documento.

Cabe señalar que, en algunos casos, los compuestos de la invención pueden poseer actividad inhibidora de la captación de la serotonina débil. En dichos casos, los expertos habituales en la materia reconocerán que los compuestos siguen teniendo utilidad como herramientas de investigación.

Los ensayos ilustrativos para determinar la actividad inhibidora de la captación de la serotonina de los compuestos de la invención incluyen, a modo de ejemplo y no de limitación, ensayos que miden la unión a SERT, por ejemplo, como se describe en el Ensayo 1 y en Tsuruda *et al*. (2010) "Journal of Pharmacological and Toxicological Methods" 61(2):192-204. Los ensayos secundarios útiles incluyen ensayos de captación de neurotransmisores para medir la inhibición de la captación de la serotonina en las células que expresan el transportador recombinante humano o de rata como se describe en el Ensayo 2, y ensayos de unión de radioligando *ex vivo*, que se usan para determinar la ocupación *in vivo* de SERT en el tejido como se describe en el Ensayo 3. Otros ensayos que son útiles para evaluar las propiedades farmacológicas de los compuestos de ensayo incluyen, pero sin limitación, ensayos de cinética de unión de ligandos en frío (Motulsky y Mahan (1984) *Molecular Pharmacol.* 25(1): 1-9)) a membranas preparadas a partir de células que expresan hSERT; ensayos de unión de radioligando a membranas convencionales usando compuesto de ensayo marcado radiactivamente, por ejemplo, tritiado; ensayos de unión de radioligando usando tejido nativo de, por ejemplo, cerebro humano o de roedor; ensayos de captación de neurotransmisores usando plaquetas humanas o de roedor; y ensayos de captación de neurotransmisores usando preparados de sinaptosomas en bruto, o puros, a partir de cerebro de roedor.

Los ensayos ilustrativos *in vivo* incluyen el modelo de serotonina periférica de rata descrito, por ejemplo, en Ortiz *et al*. (1992) *British Journal of Pharmacology* 105: 941-946; y el modelo del síndrome de la serotonina de rata descrito, por ejemplo, en Izumi *et al*. (2006) *European Journal of Pharmacology* 532: 258-264. El modelo de monocrotalina de rata de la hipertensión arterial pulmonar se describe, por ejemplo, en Kato *et al.* (2008) *J. Cardiovasc. Pharmacol*. 51(1): 18-23, que es un predictor fiable de la eficacia clínica para el tratamiento de la hipertensión arterial pulmonar. Los ensayos de agregación plaquetaria se describen, por ejemplo, en Carneiro *et al*. (2008) *J. Clin. Invest.* 118 (4): 1544-1552. La trombosis se puede medir mediante varios modelos, incluyendo el modelo de trombosis arterial de roedor descrito, en Krekora *et al.* (1999) *Thrombosis Research* 96: 407-414, y el modelo de anastomosis microarterial de roedor, descrito en Nayak *et al* (2005) *Arch Otolaryngol Head Meek Surg*. 131: 800- 803). El modelo de hipoxia de ratón también es útil para evaluar los compuestos de la invención, y se describe, por ejemplo, en Marcos *et al.*, (2003) *Am. J. Respir. Crit. Care Med*. 168: 487-493. Los ensayos mencionados anteriormente son útiles en la determinación de la utilidad terapéutica. Es posible demostrar otras propiedades y utilidades de los compuestos de la invención usando varios ensayos *in vitro* e *in vivo* bien conocidos por los expertos en la materia.
En una realización, los compuestos de la invención son periféricamente selectivos, de modo que existen predominantemente en la periferia (por ejemplo, en el plasma) en comparación con el sistema nervioso central (por ejemplo, el cerebro o líquido cefalorraquídeo), medidos en modelos animales. Un método de evaluación de la selectividad periférica consiste en determinar la proporción de la concentración libre en plasma en comparación con la concentración libre en cerebro y líquido cefalorraquídeo, medida por el AUC, que es la integral de la concentración

de fármaco una vez administrado. En una realización, los compuestos de la invención presentan una proporción de concentración libre en plasma:concentración libre en cerebro superior a 10. Un ensayo ilustrativo para medir los valores de AUC se describe en el Ensayo 4. Otro método de evaluación de la selectividad periférica consiste en medir el nivel de inhibición de SERT en el plasma en comparación con el nivel de inhibición de SERT en el cerebro. En una realización, los compuestos de la invención presentan una proporción de inhibición de SERT en plasma:cerebro en el intervalo de aproximadamente 20:1 a aproximadamente 80:1 (medida en ratas). La ocupación de SERT en el cerebro es otra manera de medir si un compuesto es periféricamente selectivo. En una realización, los compuestos de la invención presentan menos del 70 % de ocupación de SERT en el cerebro (medida en ratas).

Cabe esperar que los compuestos de la invención sean útiles para el tratamiento y/o la prevención de afecciones en las que está implicada la regulación de la función del transportador de monoamina periférico, en particular, las afecciones mediadas por o que responden a la inhibición de la captación de la serotonina. Por lo tanto, se espera que los pacientes que padecen una enfermedad o un trastorno que se trata mediante la inhibición del transportador de la serotonina se pueden tratar mediante la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de la captación de la serotonina de la invención.

La cantidad de agente activo administrado por dosis o la cantidad total administrada al día se puede predeterminar o determinar en base a cada paciente teniendo en cuenta numerosos factores, incluyendo la naturaleza y la gravedad de la afección del paciente, la afección que se esté tratando, la edad, el peso y el estado de salud general del paciente, la tolerancia del paciente al agente activo, la vía de administración, consideraciones farmacológicas tales como la actividad, eficacia, farmacocinética y perfiles toxicológicos del agente activo y cualquier agente secundario que se esté administrando, y similares. El tratamiento de un paciente que padece una enfermedad o afección (tal como hipertensión arterial pulmonar) puede comenzar con una dosis predeterminada o una dosis determinada por el médico tratante, y continuará durante un período de tiempo necesario para prevenir, mejorar, suprimir o aliviar los síntomas de la enfermedad o afección. Los pacientes sometidos a dicho tratamiento normalmente estarán monitorizados de forma rutinaria para determinar la eficacia de la terapia. Los indicadores para las enfermedades y afecciones descritas en el presente documento son bien conocidos por los expertos en la materia y se pueden obtener fácilmente por el médico tratante. La monitorización continua por parte del médico garantizará que se administre la cantidad óptima de agente activo en un momento dado, así como facilitando la determinación de la duración del tratamiento. Esto es particularmente valioso cuando también se administran agentes secundarios, ya que su selección, la dosis y la duración de la terapia también pueden requerir un ajuste. De esta manera, la pauta de tratamiento y el programa de dosificación se pueden ajustar en el transcurso de la terapia de manera que se administre la cantidad más baja de agente activo que presenta la eficacia deseada y, además, que la administración continúe solo el tiempo que sea necesario para tratar satisfactoriamente la enfermedad o afección.

Hipertensión arterial pulmonar (HAP)

Se ha demostrado que los compuestos que tienen actividad inhibidora de la captación de la serotonina previenen o invierten la HAP en modelos animales. Véase, por ejemplo, Zhu *et al.* (2009) “Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology”, 36(8): e1-e5 y Shah *et al*. (2009) “Chest” 136(3):694-700. Por lo tanto, cabe esperar que los compuestos de la invención encuentren utilidad en el tratamiento de la HAP, así como que puedan encontrar utilidad en la prevención de la progresión de la enfermedad. Además, se espera que los compuestos de la invención encuentren utilidad en el tratamiento de la HAP asociada con la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC); véase, por ejemplo, Chaouat *et al.* (2009) “Chest” 136:3. Para el tratamiento de la HAP, la cantidad terapéuticamente eficaz es normalmente la cantidad que es suficiente para reducir la resistencia vascular pulmonar. Otros objetivos de la terapia son la mejora de la capacidad para realizar ejercicio del paciente y la reducción de la mortalidad asociada con la HAP. Por ejemplo, en un entorno clínico, la cantidad terapéuticamente eficaz puede ser la cantidad que mejora la capacidad del paciente para caminar cómodamente durante un período de 6 minutos (que abarcan una distancia de aproximadamente 20-40 metros). Cuando se usan para el tratamiento de este trastorno, los compuestos de la invención se pueden administrar con agentes secundarios, incluyendo a modo de ilustración y no de limitación, antagonistas α-adrenérgicos, antagonistas del receptor β_1-adrenérgico, agonistas del receptor β_2-adrenérgico, inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina, anticoagulantes, bloqueadores de los canales del calcio, diuréticos, antagonistas de los receptores de endotelina, inhibidores de la PDE-5, análogos de la prostaglandina y sus combinaciones.

Enfermedades cardiovasculares inducidos por la trombosis

Se ha encontrado que la serotonina desempeña un papel en la activación de las plaquetas (Véase, por ejemplo, Walther *et al.* (2003) *Cell* 115: 851-862). Por lo tanto, puesto que los compuestos de la invención tienen actividad inhibidora de la captación de la serotonina, se espera que encuentren utilidad en el tratamiento antiplaquetario, en particular, para el tratamiento de: enfermedades cardiovasculares inducidas por la trombosis, tales como: aterosclerosis; enfermedades cerebrovasculares tales como la apoplejía; insuficiencia cardiaca congestiva; enfermedad de las arterias coronarias tales como la angina de pecho; infarto de miocardio (ataque al corazón) y otras formas de enfermedad cardiaca isquémica; síndrome metabólico (síndrome X); enfermedad vascular periférica; embolia pulmonar; trombosis, incluyendo trombosis vascular periférica; y reoclusión trombótica que puede ocurrir

después de la cirugía. Cuando se usan para tratar dichos trastornos, los compuestos de la invención se pueden administrar en combinación con uno o más de otros agentes antitrombóticos.

Trastornos gastrointestinales

Se ha encontrado que las anomalías en la captación de la serotonina pueden alterar la señalización serotoninérgica entérica, que conduce a disfunciones sensoriales, motoras e intestinales secretoras. Véase, por ejemplo, Colucci *et al.* (2008) *Trends in Molecular Medicine* 14(7): 295-304. Por lo tanto, cabe esperar que los compuestos de la invención encuentren utilidad en el tratamiento de trastornos gastrointestinales en tracto gastrointestinal medio o inferior. Estos incluyen, por ejemplo, síndrome del intestino irritable, síndrome del intestino irritable con predominio de diarrea, dispepsia, distensión abdominal funcional, estreñimiento funcional y diarrea funcional. Cuando se usan para el tratamiento de trastornos gastrointestinales, los compuestos de la invención se pueden administrar con agentes secundarios, incluyendo a modo ilustrativo y no de limitación, antidiarreicos, agentes antiespasmódicos (por ejemplo, anticolinérgicos y relajantes del músculo liso), y combinaciones de los mismos.

Cáncer

Estudios recientes han indicado que el transportador de los neurotransmisores de la serotonina desempeña un papel en el cáncer. Véase, por ejemplo, Gil-Ad *et al.*, (2008) *International Journal of Oncology* 33: 277-286 y Amit *et al.*, *European Neuropsychopharmacology* (2009) 19:726-734. Por lo tanto, se espera que los compuestos de la invención encuentren utilidad como agentes antiproliferativos en el tratamiento del cáncer, tal como cáncer colorrectal y leucemia, y se puedan administrar con agentes secundarios tales como agentes antineoplásicos, agentes antiproliferativos, agentes citotóxicos, inhibidores del crecimiento tumoral y combinaciones de los mismos.

Artritis reumatoide

Se ha demostrado que los compuestos que tienen actividad inhibidora de la captación de la serotonina presentan propiedades antiinflamatorias (Roumestan *et al*. “Respiratory Research” (2007) 8:35), más particularmente en un modelo animal de la artritis reumatoide (Sacre *et al.* (2010) “Arthritis & Rheumatism” 62(3):683-693. Por lo tanto, se espera que los compuestos de la invención encuentren utilidad en el tratamiento de la artritis reumatoide, y se puedan administrar con agentes secundarios tales como corticosteroides; fármacos antirreumáticos modificadores de la enfermedad, incluyendo hidroxicloroquina, leflunomida, metotrexato, sulfasalazina, sales de oro tales como oro intramuscular, terapias con antagonistas del receptor de la interleucina-1 tales como anakinra, agentes de agotamiento de linfocitos B tales como rituximab, agentes bloqueadores coestimulantes de linfocitos T tales como abatacept, inhibidores del factor de necrosis tumoral tales como adalimumab, etanercept y infliximab, y agentes inmunomoduladores y citotóxicos tales como azatioprina, ciclofosfamida y ciclosporina A; agentes antiinflamatorios no esteroideos; y sus combinaciones.

Osteoartritis

Se ha demostrado que el inhibidor de la captación de la serotonina duloxetina es útil en la reducción de la intensidad del dolor en pacientes con dolor de osteoartritis de la rodilla. Por lo tanto, también se espera que los compuestos de la invención encuentren utilidad en el tratamiento de la osteoartritis, y se puedan administrar con agentes secundarios tales como analgésicos (por ejemplo, acetaminofeno), corticosteroides, agentes antiinflamatorios no esteroideos; y sus combinaciones.

Osteoporosis

Se ha propuesto que la serotonina derivada del intestino inhibe la formación de hueso. En estudios recientes, se ha investigado si afectando a la biosíntesis de la serotonina derivada del intestino se podría tratar la osteoporosis mediante el aumento de la formación de hueso, y se llegó a la conclusión de que la inhibición de dicha biosíntesis se podría convertir en un nuevo tratamiento para la osteoporosis (Yadav *et al., Nature Medicine* (2010) 16: 308-312). Por lo tanto, también se espera que los compuestos de la invención encuentren utilidad en el tratamiento de la osteoporosis.

Diabetes

Se ha demostrado que el inhibidor de la captación de la serotonina s-citalopram es útil en el tratamiento de pacientes con depresión mayor comórbida y diabetes mellitus, que muestran una capacidad potencial para mejorar el control glucémico (Amsterdam *et al.* (2006) *Neuropsychobiology* 54: 208-214). Los estudios con el inhibidor de la captación de la serotonina fluvoxamina sugieren que dichos compuestos pueden encontrar utilidad en la reducción de la hiperglucemia postprandial (Moore *et al.* (2005) *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab*. 288:E556-E563). Por lo tanto, también se espera que los compuestos de la invención encuentren utilidad en el tratamiento de la diabetes, y se puedan administrar con agentes secundarios antibióticos eficaces por vía oral tales como: biguanidas tales como metformina; antagonistas del glucagón; inhibidores de la α-glucosidasa tales como acarbosa y miglitol; inhibidores de la dipeptidil peptidasa IV (inhibidores de la DPP-IV) tales como alogliptina, denagliptina, linagliptina, saxagliptina,

sitagliptina y vildagliptina; meglitinidas tales como repaglinida; oxadiazolidindiones; sulfonilureas tales como clorpropamida, glimepirida, glipizida, gliburida y tolazamida; tiazolidindionas tales como pioglitazona y rosiglitazona; y sus combinaciones.

Herramientas de investigación

Dado que los compuestos de la invención poseen actividad de inhibición de la captación de la serotonina, también son útiles como herramientas de investigación para investigar o estudiar sistemas biológicos o muestras que tengan transportadores de la serotonina. En dichos estudios, se puede emplear cualquier sistema biológico o muestra adecuados que tengan transportadores de la serotonina, los cuales se pueden realizar *in vitro* o *in vivo*. Los sistemas biológicos o muestras representativos adecuados para dichos estudios incluyen, pero sin limitación, células, extractos celulares, membranas plasmáticas, muestras de tejido, órganos aislados, mamíferos (tales como ratones, ratas, cobayas, conejos, perros, cerdos, seres humanos, y así sucesivamente), y similares, siendo los mamíferos de particular interés. En una realización particular de la invención, la captación de la serotonina en un mamífero es inhibida por la administración de una cantidad inhibidora de la captación de la serotonina de un compuesto de la invención. Los compuestos de la invención también se pueden usar como herramientas de investigación mediante la realización de ensayos biológicos usando dichos compuestos.

Cuando se usa como herramienta de investigación, normalmente se pone en contacto un sistema biológico o una muestra que comprenda un transportador de la serotonina con una cantidad inhibidora de la captación de la serotonina de un compuesto de la invención. Una vez expuesto el sistema biológico o la muestra al compuesto, se determinan los efectos de la inhibición de la captación de la serotonina usando procedimientos y equipos convencionales. La exposición abarca poner en contacto células o tejidos con el compuesto, administrar el compuesto a un mamífero, por ejemplo, mediante administración i.p. o i.v., mediante el uso de una bomba implantable tal como la bomba osmótica Alzet®, y así sucesivamente. Esta etapa de determinación puede comprender la medición de una respuesta, es decir, un análisis cuantitativo, o puede comprender una observación, es decir, un análisis cualitativo. La medición de una respuesta implica, por ejemplo, la determinación de los efectos del compuesto sobre el sistema biológico o la muestra usando procedimientos y equipos convencionales, tales como un ensayo de la captación de la serotonina. Los resultados del ensayo se pueden usar para determinar el nivel de actividad, así como la cantidad de compuesto necesaria para lograr el resultado deseado, es decir, una cantidad inhibidora de la captación de la serotonina.

Además, los compuestos de la invención se pueden usar como herramientas de investigación para la evaluación de otros compuestos químicos y, por lo tanto, son útiles en ensayos de selección para descubrir, por ejemplo, nuevos compuestos que tengan actividad inhibidora de la captación de la serotonina. De esta manera, un compuesto de la invención se usa como un patrón en un ensayo para permitir la comparación de los resultados obtenidos con un compuesto de ensayo y con los compuestos de la invención para identificar aquellos compuestos de ensayo que tengan actividad inhibidora de la captación aproximadamente igual o superior, si los hay. Por ejemplo, los datos de captación de un compuesto de ensayo o un grupo de compuestos de ensayo se comparan con los datos de captación de un compuesto de la invención para identificar aquellos compuestos de ensayo que tienen las propiedades deseadas, por ejemplo, los compuestos de ensayo que tienen actividad de inhibición de la captación aproximadamente igual o superior a un compuesto de la invención, si los hay. Este aspecto de la invención incluye, como realizaciones separadas, tanto la generación de datos comparativos (usando los ensayos apropiados) como el análisis de los datos de ensayo para identificar los compuestos de ensayo de interés. Por lo tanto, es posible evaluar un compuesto de ensayo en un ensayo biológico, mediante un método que comprende las etapas de: (a) realizar un ensayo biológico con un compuesto de ensayo para proporcionar un primer valor de ensayo; (b) realizar el ensayo biológico con un compuesto de la invención para proporcionar un segundo valor de ensayo; en el que la etapa (a) se realiza bien antes, después o simultáneamente a la etapa (b); y (c) comparar el primer valor de ensayo de la etapa (a) con el segundo valor de ensayo de la etapa (b). Los ensayos biológicos ilustrativos incluyen ensayos de la captación de la serotonina.

COMPOSICIONES Y FORMULACIONES FARMACÉUTICAS

Los compuestos de la invención normalmente se administran a un paciente en forma de una composición o formulación farmacéutica. Dichas composiciones farmacéuticas se pueden administrar al paciente por cualquier vía de administración aceptable incluyendo, pero sin limitación, los modos de administración oral, rectal, vaginal, nasal, inhalada, tópica (incluyendo transdérmica) y parenteral. Además, los compuestos de la invención se pueden administrar, por ejemplo, por vía oral, en múltiples dosis al día (por ejemplo, dos veces, tres veces o cuatro veces al día), en una sola dosis diaria, en una dosis dos veces al día, en una sola dosis semanal, y así sucesivamente. Se entenderá que se puede usar cualquier forma de los compuestos de la invención, (es decir, base libre, sal farmacéuticamente aceptable, solvato, etc.) que sea adecuada para el modo particular de administración en las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento.

Por consiguiente, en una realización, la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y un compuesto de la invención. Las composiciones pueden contener otros agentes terapéuticos y/o de formulación, si se desea. Cuando se habla de composiciones, el "compuesto de la invención" también se puede denominar en el presente documento el "agente activo", para distinguirlo de otros

componentes de la formulación tales como el vehículo. Por lo tanto, se entiende que el término "agente activo" incluye compuestos de fórmula I, así como las sales y los solvatos farmacéuticamente aceptables de dicho compuesto.

Las composiciones farmacéuticas de la invención normalmente contienen una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la invención. Los expertos en la materia reconocerán, sin embargo, que una composición farmacéutica puede contener más de una cantidad terapéuticamente eficaz, es decir, composiciones a granel, o menos de una cantidad terapéuticamente eficaz, es decir, dosis unitarias individuales diseñadas para la administración múltiple hasta alcanzar una cantidad terapéuticamente eficaz. Por lo general, la composición contendrá del aproximadamente 0,01 al 95 % en peso de agente activo, incluyendo, del aproximadamente 0,01 al 30 % en peso, tal como del aproximadamente 0,01 al 10 % en peso, dependiendo la cantidad real de la propia formulación, la vía de administración, la frecuencia de la dosificación, y así sucesivamente. En una realización, una composición adecuada para una forma de dosificación oral, por ejemplo, puede contener aproximadamente del 5 al 70 % en peso, o del aproximadamente 10 al 60 % en peso de agente activo.

En las composiciones farmacéuticas de la invención, se puede usar cualquier vehículo o excipiente convencional. La elección de un determinado vehículo o excipiente, o combinaciones de vehículos o excipientes, dependerá del modo de administración que se esté usando para tratar a un determinado paciente o tipo de afección o estado patológico. En este sentido, la preparación de una composición adecuada para un modo particular de administración pertenece al alcance de los expertos en las técnicas farmacéuticas. Además, los vehículos o excipientes usados en dichas composiciones se encuentran disponibles en el mercado. A modo ilustrativo, en “Remington: The Science and Practice of Pharmacy”, XX Edición, Lippincott Williams & White, Baltimore, Maryland (2000); y H. C. Ansel *et al.,* “Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems”, VII Edición, Lippincott Williams & White, Baltimore, Maryland (1999), se describen técnicas de formulación convencionales.

Los ejemplos representativos de materiales que pueden servir como vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen, pero sin limitación, los siguientes: azúcares tales como lactosa, glucosa y sacarosa; almidones tales como almidón de maíz y almidón de patata; celulosa tal como celulosa microcristalina, y sus derivados tales como carboximetilcelulosa sódica, etilcelulosa y acetato de celulosa; tragacanto en polvo; malta; gelatina; talco; excipientes tales como manteca de cacao y ceras para supositorios; aceites tales como aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de cártamo, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de soja; glicoles tales como propilenglicol; polioles tales como glicerina, sorbitol, manitol y polietilenglicol; ésteres tales como oleato de etilo y laurato de etilo; agar; agentes tampón tales como hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio; ácido algínico; agua apirógena; solución salina isotónica; solución de Ringer; alcohol etílico; soluciones tampón de fosfato; gases propulsores comprimidos tales como clorofluorocarbonos e hidrofluorocarbonos; y otras sustancias compatibles no tóxicas empleadas en composiciones farmacéuticas.

Las composiciones farmacéuticas normalmente se preparan mezclando bien e íntimamente o combinando el agente activo con un vehículo farmacéuticamente aceptable y uno o más ingredientes opcionales. A continuación, se puede dar forma a la mezcla mezclada uniformemente resultante o cargarla en comprimidos, cápsulas, píldoras, botes, cartuchos, dispensadores, y similares, usando procedimientos y equipos convencionales.

En una realización, las composiciones farmacéuticas son adecuadas para la administración oral. Una pauta de dosificación ilustrativa sería una forma de dosificación oral administrada una vez o dos veces al día. Las composiciones adecuadas para la administración oral pueden estar en forma de cápsulas, comprimidos, píldoras, pastillas, sellos, grageas, polvos, gránulos; soluciones o suspensiones en un líquido acuoso o no acuoso; emulsiones líquidas de aceite en agua o de agua en aceite; elixires o jarabes; y similares; conteniendo cada uno una cantidad predeterminada del agente activo.

Cuando se destinan a la administración oral en una forma de dosificación sólida (es decir, como cápsulas, comprimidos, píldoras, y similares), la composición comprenderá normalmente el agente activo y uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables, tales como citrato de sodio o fosfato dicálcico. Las formas de dosificación sólidas también pueden comprender: cargas o extendedores tales como almidones, celulosa microcristalina, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol y/o ácido silícico; aglutinantes tales como carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidona, sacarosa y/o acacia; humectantes tales como glicerol; agentes disgregantes tales como agar-agar, carbonato de calcio, almidón de patata o tapioca, ácido algínico, ciertos silicatos y/o carbonato de sodio; solución de agentes retardantes tales como parafina; aceleradores de la absorción tales como compuestos de amonio cuaternario; agentes humectantes tales como alcohol cetílico y/o monoestearato de glicerol; absorbentes tales como caolín y/o arcilla de bentonita; lubricantes tales como talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, laurilsulfato de sodio y/o mezclas de los mismos; agentes colorantes; y agentes tampón.

En las composiciones farmacéuticas, también puede haber agentes de liberación, agentes humectantes, agentes de recubrimiento, edulcorantes, aromatizantes y perfumantes, conservantes y antioxidantes. Los ejemplos de agentes de recubrimiento para comprimidos, cápsulas, píldoras y similares incluyen los usados para las cubiertas entéricas tales como ftalato de acetato de celulosa, ftalato de acetato de polivinilo, ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa, copolímeros de éster de ácido metacrílico-ácido metacrílico, trimelitato de acetato de celulosa,

carboximetiletilcelulosa, succinato de acetato de hidroxipropilmetilcelulosa, y similares. Los ejemplos de antioxidantes farmacéuticamente aceptables incluyen: antioxidantes hidrosolubles tales como ácido ascórbico, clorhidrato de cisteína, bisulfato sódico, metabisulfato sódico, sulfito sódico y similares; antioxidantes liposolubles tales como palmitato de ascorbilo, hidroxianisol butilado, hidroxitolueno butilado, lecitina, galato de propilo, α-tocoferol, y similares; y agentes quelantes de metales tales como ácido cítrico, ácido etilendiaminotetraacético, sorbitol, ácido tartárico, ácido fosfórico, y similares.

Las composiciones también se pueden formular para proporcionar una liberación lenta o controlada del agente activo usando, a modo de ejemplo, hidroxipropilmetilcelulosa en proporciones variables u otras matrices poliméricas, liposomas y/o microesferas. Además, las composiciones farmacéuticas de la invención pueden contener agentes opacificantes y se pueden formular de manera que solo liberen el agente activo, o preferentemente, en una cierta porción del tracto gastrointestinal, opcionalmente, de una manera retardada. Los ejemplos de composiciones de inclusión que se pueden usar incluyen sustancias poliméricas y ceras. El agente activo también puede estar en forma microencapsulada, si es apropiado, con uno o más de los excipientes descritos anteriormente.

Las formas de dosificación líquidas adecuadas para la administración oral incluyen, a modo ilustrativo, emulsiones, microemulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables. Las formas de dosificación líquidas comprenden normalmente el agente activo y un diluyente inerte tal como, por ejemplo, agua u otros disolventes, agentes solubilizantes y emulsionantes tales como alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, aceites (por ejemplo, aceites de semilla de algodón, cacahuete, maíz, germen, oliva, ricino y sésamo), glicerol, alcohol tetrahidrofurílico, polietilenglicoles y ésteres de ácidos grasos de sorbitán, y mezclas de los mismos. Las suspensiones pueden contener agentes de suspensión tales como, por ejemplo, alcoholes de isoestearilo etoxilados, sorbitol de polioxietileno y ésteres de sorbitán, celulosa microcristalina, metahidróxido de aluminio, bentonita, agar-agar y tragacanto, y mezclas de los mismos.

Cuando se destinan a la administración oral, las composiciones farmacéuticas de la invención se pueden envasar en una forma de dosificación unitaria. La expresión "forma de dosificación unitaria" se refiere a una unidad físicamente diferenciada adecuada para la dosificación a un paciente, es decir, cada unidad contiene una cantidad predeterminada del agente activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado, bien sola o en combinación con una o más unidades adicionales. Por ejemplo, dichas formas de dosificación unitaria pueden ser cápsulas, comprimidos, píldoras, y similares.

En otra realización, las composiciones de la invención son adecuadas para la administración inhalada, y normalmente estarán en forma de un aerosol o un polvo. Dichas composiciones se administran generalmente usando dispositivos de administración muy conocidos, tales como un nebulizador, polvo seco o inhalador de dosis medidas. Los dispositivos nebulizadores producen un flujo de aire a alta velocidad que hace que la composición se pulverice como una neblina que es transportada por el tracto respiratorio de un paciente. Una formulación de nebulización ilustrativa comprende el agente activo disuelto en un vehículo para formar una solución, o micronizado y combinado con un vehículo para formar una suspensión de partículas micronizadas de tamaño respirable. Los inhaladores de polvo seco administran el agente activo como un polvo suelto que se dispersa en el flujo de aire de un paciente durante la inspiración. Una formulación de polvo seco ilustrativa comprende el agente activo mezclado en seco con un excipiente tal como lactosa, almidón, manitol, dextrosa, ácido poliláctico, poliláctido-co-glicólido, y combinaciones de los mismos. Los inhaladores de dosis medidas descargan una cantidad medida del agente activo usando gas propulsor comprimido. Una formulación de dosis medidas de ejemplo comprende una solución o suspensión del agente activo en un propulsor licuado, tal como un clorofluorocarbono o hidrofluoroalcano. Los componentes opcionales de dichas formulaciones incluyen codisolventes tales como etanol o pentano, y tensioactivos tales como trioleato de sorbitán, ácido oleico, lecitina y glicerina. Dichas composiciones normalmente se preparan añadiendo hidrofluoroalcano enfriado o presurizado en un recipiente adecuado que contiene el agente activo, etanol (si está presente) y el tensioactivo (si está presente). Para preparar una suspensión, el agente activo se microniza y, a continuación, se combina con el propulsor. Como alternativa, se puede preparar una formulación en suspensión mediante secado por pulverización de un recubrimiento de tensioactivo sobre partículas micronizadas del agente activo. A continuación, se carga la formulación en un bote de aerosol, que forma una parte del inhalador.

Los compuestos de la invención también se pueden administrar parenteralmente (por ejemplo, por inyección subcutánea, intravenosa, intramuscular o intraperitoneal). Para dicha administración, el agente activo se proporciona en una solución, suspensión o emulsión estéril. Los ejemplos de disolventes para preparar dichas formulaciones incluyen agua, solución salina, alcoholes de bajo peso molecular tales como propilenglicol, polietilenglicol, aceites, gelatina, ésteres de ácidos grasos tales como oleato de etilo, y similares. Una formulación parenteral típica es una solución acuosa de pH 4-7 estéril del agente activo. Las formulaciones parenterales también pueden contener uno o más solubilizantes, estabilizantes, conservantes, agentes humectantes, emulsionantes y agentes dispersantes. Estas formulaciones se pueden volver estériles mediante el uso de un medio inyectable estéril, un agente de esterilización, filtración, irradiación o calor.

Los compuestos de la invención también se pueden administrar por vía transdérmica usando sistemas de administración transdérmica y excipientes conocidos. Por ejemplo, el compuesto se puede mezclar con

potenciadores de la permeación tales como propilenglicol, monolaurato de polietilenglicol, azacicloalcan-2-onas y similares, e incorporarse en un parche o sistema de administración similar. Si se desea, se pueden usar otros excipientes adicionales, incluyendo agentes gelificantes, emulsionantes y tampones, en dichas composiciones transdérmicas.

Agentes secundarios

Los compuestos de la invención pueden ser útiles como el único tratamiento de una enfermedad o se pueden combinar con uno o más de otros agentes terapéuticos con el fin de obtener el efecto terapéutico deseado. Por lo tanto, en una realización, las composiciones farmacéuticas de la invención contienen otros fármacos que se administran junto con un compuesto de la invención. Por ejemplo, la composición puede comprender además uno o más fármacos (también denominados "agentes secundarios"). Hay numerosos ejemplos de dichos agentes terapéuticos bien conocidos en la técnica y, en el presente documento, se describen ejemplos. Mediante la combinación de un compuesto de la invención con un agente secundario, se puede lograr una terapia doble, es decir, la actividad inhibidora de la captación de la serotonina y la actividad asociada con el agente secundario. Por consiguiente, en otro aspecto más de la invención, una composición farmacéutica comprende un compuesto de la invención, un segundo agente activo y un vehículo farmacéuticamente aceptable. También se puede incluir un tercer, cuarto, etc., agente activo en la composición. En la terapia de combinación, la cantidad de compuesto de la invención que se administra, así como la cantidad de agentes secundarios, puede ser inferior a la cantidad normalmente administrada en monoterapia.

Bien se puede mezclar físicamente un compuesto de la invención con el segundo agente activo para formar una composición que contenga ambos agentes; o cada agente puede estar presente en composiciones distintas y separadas que se administren al paciente simultánea o secuencialmente. Por ejemplo, un compuesto de la invención se puede combinar con un segundo agente activo usando procedimientos y equipos convencionales para formar una combinación de agentes activos que comprende un compuesto de la invención y un segundo agente activo. Además, los agentes activos se pueden combinar con un vehículo farmacéuticamente aceptable para formar una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la invención, un segundo agente activo y un vehículo farmacéuticamente aceptable. En esta realización, los componentes de la composición normalmente se mezclan o combinan para crear una mezcla física. A continuación, la mezcla física se administra en una cantidad terapéuticamente eficaz usando cualquiera de las vías descritas en el presente documento.

Como alternativa, los agentes activos pueden permanecer separados y diferenciados antes de la administración al paciente. En esta realización, los agentes no se mezclan físicamente entre sí antes de su administración, pero se administran simultáneamente o en momentos separados como composiciones separadas. Dichas composiciones se pueden envasar por separado o se pueden envasar juntas en un kit. Cuando se administran en momentos separados, el agente secundario normalmente se administrará menos de 24 horas después de la administración del compuesto de la invención, variando desde cualquier momento desde el concurrente con la administración del compuesto de la invención hasta aproximadamente 24 horas después de la dosis. Esto también se denomina administración secuencial. Por lo tanto, un compuesto de la invención se puede administrar por vía oral simultánea o secuencialmente con respecto a otro agente activo usando dos comprimidos, con un comprimido por cada agente activo, donde secuencial puede significar que se administra inmediatamente después de la administración del compuesto de la invención o en algún momento posterior predeterminado (por ejemplo, una hora más tarde o tres horas más tarde). Como alternativa, la combinación se puede administrar por diferentes vías de administración, es decir, uno por vía oral y el otro por inhalación.

En una realización, el kit comprende una primera forma de dosificación que comprende un compuesto de la invención y al menos una forma de dosificación adicional que comprende uno o más de los agentes secundarios expuestos en el presente documento, en cantidades suficientes para llevar a cabo los métodos de la invención. La primera forma de dosificación y la segunda (o tercera, etc.) forma de dosificación comprenden conjuntamente una cantidad terapéuticamente eficaz de agentes activos para el tratamiento o la prevención de una enfermedad o afección en un paciente.

El uno o varios agentes secundarios, cuando se incluyen, están presentes en una cantidad terapéuticamente eficaz, es decir, normalmente se administran en una cantidad que produce un efecto terapéuticamente beneficioso cuando se administran junto con un compuesto de la invención. El agente secundario puede estar en forma de una sal farmacéuticamente aceptable, solvato, estereoisómero ópticamente puro, y así sucesivamente. Así pues, los agentes secundarios enumerados a continuación pretenden incluir todas estas formas, y están disponibles en el mercado o se pueden preparar usando procedimientos y reactivos convencionales.

En una realización, los compuestos de la invención se administran en combinación con un antagonista α-adrenérgico, cuyos ejemplos representativos incluyen, pero sin limitación, doxazosina, prazosina, tamsulosina y terazosina.

Los compuestos de la invención también se pueden administrar en combinación con un antagonista de los receptores β_1-adrenérgicos ("bloqueadores β_1"). Los bloqueadores β_1 representativos incluyen, pero sin limitación,

acebutolol, alprenolol, amosulalol, arotinolol, atenolol, befunolol, betaxolol, bevantolol, bisoprolol, bopindolol, bucindolol, bucumolol, bufetolol, bufuralol, bunitrolol, bupranolol, bubridina, butofilolol, carazolol, carteolol, carvedilol, celiprolol, cetamolol, cloranolol, dilevalol, epanolol, esmolol, indenolol, labetolol, levobunolol, mepindolol, metipranolol, metoprolol tal como succinato de metoprolol y tartrato de metoprolol, moprolol, nadolol, nadoxolol, nebivalol, nipradilol, oxprenolol, penbutolol, perbutolol, pindolol, practolol, pronetalol, propranolol, sotalol, sufinalol, talindol, tertatolol, tilisolol, timolol, toliprolol, xibenolol, y combinaciones de los mismos. En una realización particular, el antagonista β_1 se selecciona entre atenolol, bisoprolol, metoprolol, propranolol, sotalol y combinaciones de los mismos. Por lo general, el bloqueador β_1 se administrará en una cantidad suficiente para proporcionar de aproximadamente 2 a 900 mg por dosis.

En una realización, los compuestos de la invención se administran en combinación con un agonista del receptor β_2-adrenérgico, cuyos ejemplos representativos incluyen, pero sin limitación, albuterol, bitolterol, fenoterol, formoterol, indacaterol, isoetarina, levalbuterol, metaproterenol, pirbuterol, salbutamol, salmefamol, salmeterol, terbutalina, y similares. Por lo general, el agonista del receptor β_2-adrenérgico se administra en una cantidad suficiente para proporcionar de aproximadamente 0,05 a 500 μg por dosis.

Los compuestos de la invención también se pueden administrar en combinación con un inhibidor de la enzima convertidora de la angiotensina (ECA). Los inhibidores de la ECA representativos incluyen, pero sin limitación, accupril, alacepril, benazepril, benazeprilat, captopril, ceranapril, cilazapril, delapril, enalapril, enalaprilato, fosinopril, fosinoprilato, imidapril, lisinopril, moexipril, monopril, moveltopril, pentopril, perindopril, quinapril, quinaprilato, ramipril, ramiprilat, acetato de saralasina, espirapril, temocapril, trandolapril, zofenopril y combinaciones de los mismos. En una realización particular, el inhibidor de ACE se selecciona entre: benazepril, enalapril, lisinopril, ramipril, y combinaciones de los mismos.

En una realización, un compuesto de la invención se administra en combinación con un anticoagulante, cuyos ejemplos representativos incluyen, pero sin limitación: cumarinas tales como warfarina; heparina; e inhibidores directos de la trombina tales como argatrobán, bivalirudina, dabigatrán y lepirudina.

En otra realización, los compuestos de la invención se administran en combinación con un agente antitrombótico. Los agentes antitrombóticos representativos incluyen, pero sin limitación, aspirina, agentes antiplaquetarios, heparina y combinaciones de los mismos. Los agentes antiplaquetarios incluyen: inhibidores de los receptores de la adenosina difosfato tales como clopidogrel (por ejemplo, bisulfato de clopidogrel), prasugrel y ticlopidina; inhibidores de la fosfodiesterasa tales como cilostazol; inhibidores de la glucoproteína IIB/IIIA, normalmente administrados por vía intravenosa, tales como abciximab, defibrotida, eptifibatida y tirofibán; y los inhibidores de la captación de la adenosina tales como dipiridamol. Los agentes antitrombóticos ilustrativos para combinación son la aspirina combinada con dipiridamol.

En una realización, los compuestos de la invención se administran en combinación con un bloqueador de los canales del calcio. Los bloqueadores de los canales del calcio representativos incluyen, pero sin limitación, amlodipina, anipamil, aranipina, barnidipino, benciclano, benidipina, bepridil, clentiazem, cilnidipino, cinarizina, diltiazem, efonidipina, elgodipina, etafenona, felodipino, fendilina, flunarizina, galopamil, isradipina, lacidipino, lercanidipino, lidoflazina, lomerizina, manidipina, mibefradil, nicardipina, nifedipina, niguldipina, niludipina, nilvadipina, nimodipina, nisoldipina, nitrendipina, nivaldipino, perhexilina, prenilamina, riosidina, semotiadil, terodilina, tiapamil, verapamilo y combinaciones de los mismos. En una realización particular, el bloqueador del canal del calcio se selecciona entre amlodipina, bepridil, diltiazem, felodipina, isradipina, lacidipina, nicardipina, nifedipina, niguldipina, niludipina, nimodipina, nisoldipina, riosidina, verapamil y combinaciones de los mismos. Por lo general, el bloqueador de los canales del calcio se administrará en una cantidad suficiente para proporcionar de aproximadamente 2 a 500 mg por dosis.

En una realización, los compuestos de la invención se administran en combinación con un diurético. Los diuréticos representativos incluyen, pero sin limitación: inhibidores de la anhidrasa carbónica tales como acetazolamida y diclorfenamida; diuréticos de asa, que incluyen derivados de sulfonamida tales como acetazolamida, ambusida, azosernida, bumetanida, butazolamida, cloraminodenamida, clofenamida, clopamida, clorexolona, disulfamida, etoxolamida, furosemida, mefrusida, metazolamida, piretanida, torasemida, tripamida y xipamida, así como diuréticos no derivados de sulfonamida tales como ácido etacrínico y otros compuestos de ácido fenoxiacético tales como ácido tienílico, indacrinona y quincarbato; diuréticos osmóticos tales como manitol; diuréticos ahorradores de potasio, que incluyen antagonistas de la aldosterona tales como la espironolactona e inhibidores de los canales del Na^+ tales como amilorida y triamtereno; tiazida y diuréticos tiazídicos tales como como altiazida, bendroflumetiazida, bencilhidroclorotiazida, benztiazida, butiazida, clortalidona, clorotiazida, ciclopentiazida, ciclotiazida, epitiazida, etiazida, fenquizona, flumetiazida, hidroclorotiazida, hidroflumetiazida, indapamida, metilclotiazida, meticrane, metolazona, paraflutizida, politiazida, quinetazona, teclotiazida y triclorometiazida; y sus combinaciones. En una realización particular, el diurético se selecciona entre amilorida, bumetanida, clorotiazida, clortalidona, diclorfenamida, ácido etacrínico, furosemida, hidroclorotiazida, hidroflumetiazida, indapamida, metilclotiazida, metolazona, torsemida, triamtereno, y combinaciones de los mismos. El diurético se administrará en una cantidad

suficiente para proporcionar de aproximadamente 5 a 50 mg al día, más normalmente de 6 a 25 mg al día, siendo las dosis comunes 6,25 mg, 12,5 mg o 25 mg al día.

En una realización particular, los compuestos de la invención se administran en combinación con un antagonista del receptor de la endotelina. Los antagonistas del receptor de la endotelina representativos incluyen, pero sin limitación, antagonistas selectivos del receptor de la endotelina (por ejemplo, sitaxentán, ambrisentán, atrasentán, BQ-123), que afectan a los receptores de la endotelina A, y antagonistas duales de los receptores de la endotelina (por ejemplo, bosentán, tezosentán), que afectan a los receptores tanto de la endotelina A como B.

En otra realización, los compuestos de la invención se administran en combinación con un antagonista muscarínico (es decir, agente anticolinérgico). Los antagonistas muscarínicos representativos incluyen, pero sin limitación, atropina, sulfato de atropina, óxido de atropina, nitrato de metilatropina, bromhidrato de homatropina, bromhidrato de hiosciamina (*d*, *l*), bromhidrato de escopolamina, bromuro de ipratropio, bromuro de oxitropio, bromuro de tiotropio, metantelina, bromuro de propantelina, metilbromuro de anisotropina, bromuro de clidinio, copirrolato (Robinul), yoduro de isopropamida, bromuro de mepenzolato, cloruro de tridihexetilo (Pathilone), metilsulfato de hexociclio, clorhidrato de ciclopentolato, tropicamida, clorhidrato de trihexifenidilo, pirenzepina, telenzepina, AF-DX 116 y metoctramina, y similares

En otra realización más, los compuestos de la invención se administran en combinación con un agente antiinflamatorio no esteroideo (AINE). Los agentes antiinflamatorios no esteroideos (AINE) representativos incluyen, pero sin limitación: acemetacina, ácido acetil salicílico, alclofenaco, alminoprofeno, amfenaco, amiprilosa, amoxiprina, anirolaco, apazona, aspirina, azapropazona, benorilato, benoxaprofeno, bezpiperilón, broperamol, ácido buclóxico, carprofeno, clidanaco, diclofenaco, diflunisal, diftalona, enolicam, etodolaco, etoricoxib, fenbufeno, fenclofenaco, ácido fenclózico, fenoprofeno, fentiazaco, feprazona, ácido flufenámico, flufenisal, fluprofeno, flurbiprofeno, furofenaco, ibufenaco, ibuprofeno, indometacina, indoprofeno, isoxepaco, isoxicam, ketoprofeno, ketorolaco, lofemizol, lornoxicam, meclofenamato, ácido meclofenámico, ácido mefenámico, meloxicam, mesalamina, miroprofeno, mofebutazona, nabumetona, naproxeno, ácido niflúmico, nimesulida, nitroflurbiprofeno, olsalazina, oxaprozina, oxpinaco, oxifenbutazona, fenilbutazona, piroxicam, pirprofeno, pranoprofeno, salsalato, sudoxicam, sulfasalazina, sulindaco, suprofeno, tenoxicam, tiopinaco, ácido tiaprofénico, tioxaprofeno, ácido tolfenámico, tolmetina, triflumidato, zidometacina, zomepiraco y combinaciones de los mismos. En una realización particular, el AINE se selecciona entre etodolaco, flurbiprofeno, ibuprofeno, indometacina, ketoprofeno, ketorolaco, meloxicam, naproxeno, oxaprozina, piroxicam, y combinaciones de los mismos.

En una realización particular, los compuestos de la invención se administran en combinación con un inhibidor de la fosfodiesterasa-5 (PDE-5). Los inhibidores de PDE-5 representativos incluyen, pero sin limitación, avanafil, lodenafil, mirodenafil, sildenafil (Revatio®), tadalafil (Adcirca®), vardenafil (Levitra®) y udenafil.

En otra realización, los compuestos de la invención se administran en combinación con un análogo de prostaglandina (también denominado prostanoides o análogos de la prostaciclina). Los análogos de prostaglandina representativos incluyen, pero sin limitación, beraprost sódico, bimatoprost, epoprostenol, iloprost, latanoprost, travoprost y treprostinil.

Las siguientes formulaciones ilustran composiciones farmacéuticas representativas de la presente invención:

Ejemplos de cápsulas de gelatina dura para la administración oral

Se mezclan bien un compuesto de la invención (50 g), lactosa secada por pulverización (440 g) y estearato de magnesio (10 g). A continuación, se carga la composición resultante en cápsulas de gelatina dura (500 mg de composición por cápsula).

Como alternativa, se mezcla bien un compuesto de la invención (20 mg) con el almidón (89 mg), celulosa microcristalina (89 mg) y estearato de magnesio (2 mg). A continuación, se hace pasar la mezcla a través de un tamiz estadounidense de malla Nº 45 y se carga en una cápsula de gelatina dura (200 mg de composición por cápsula).

Ejemplo de formulación de cápsulas de gelatina para la administración oral

Se mezcla bien un compuesto de la invención (100 mg) con monooleato de polioxietilensorbitán (50 mg) y almidón en polvo (250 mg). A continuación, se carga la mezcla en una cápsula de gelatina (400 mg de composición por cápsula).

Como alternativa, se mezcla bien un compuesto de la invención (40 mg) con celulosa microcristalina (Avicel PH 103; 259,2 mg) y estearato de magnesio (0,8 mg). A continuación, se carga mezcla en una cápsula de gelatina (tamaño Nº 1, blanca, opaca) (300 mg de composición por cápsula).

Ejemplo de formulación de comprimidos para la administración oral

Se hacen pasar un compuesto de la invención (10 mg), almidón (45 mg) y celulosa microcristalina (35 mg) a través de un tamiz estadounidense de malla Nº 20 y se mezclan bien. Se secan los gránulos así producidos a 50-60 ºC y se hacen pasar a través de un tamiz estadounidense de malla Nº 16. Se mezcla una solución de polivinilpirrolidona (4 mg en forma de una solución al 10 % en agua estéril) con carboximetilalmidón de sodio (4,5 mg), estearato de magnesio (0,5 mg) y talco (1 mg) y, a continuación, se hace pasar esta mezcla a través de un tamiz estadounidense de malla Nº 16. A continuación, se añaden carboximetilalmidón de sodio, estearato de magnesio y talco a los gránulos. Tras mezclar, se comprime la mezcla en una máquina de comprimidos, proporcionando un comprimido que pesa 100 mg.

Como alternativa, se mezcla bien un compuesto de la invención (250 mg) con celulosa microcristalina (400 mg), dióxido de silicio de pirólisis (10 mg) y ácido esteárico (5 mg). Se comprime la mezcla para formar comprimidos (665 mg de composición por comprimido).

Como alternativa, se mezcla bien un compuesto de la invención (400 mg) con almidón de maíz (50 mg), croscarmelosa de sodio (25 mg), lactosa (120 mg) y estearato de magnesio (5 mg). A continuación, se comprime la mezcla para formar un comprimido con una sola marca (600 mg de composiciones por comprimido).

Ejemplo de formulación de suspensión para la administración oral

Se mezclan los siguientes ingredientes para formar una suspensión que contiene 100 mg de agente activo por 10 ml de suspensión:

Ingredientes	Cantidad
Compuesto de la invención	1,0 g
Ácido fumárico	0,5 g
Cloruro sódico	2,0 g
Metilparabeno	0,15 g
Propilparabeno	0,05 g
Azúcar granulado	25,5 g
Sorbitol (solución al 70 %)	12,85 g
Veegum® K (silicato de magnesio y aluminio)	1,0 g
Aromatizante	0,035 ml
Colorantes	0,5 mg
Agua destilada	Hasta 100 ml

Ejemplo de formulación inyectable para la administración por inyección

Se mezcla un compuesto de la invención (0,2 g) con solución tampón de acetato de sodio 0,4 M (2,0 ml). Se ajusta el pH de la solución resultante a pH 4 usando ácido clorhídrico acuoso 0,5 N o hidróxido de sodio acuoso 0,5 N, según sea necesario, y a continuación se añade suficiente agua para inyección hasta proporcionar un volumen total de 20 ml. Luego se filtra la mezcla a través de un filtro estéril (0,22 micrómetros), proporcionándose una solución estéril adecuada para la administración por inyección.

Ejemplos de composiciones para la administración por inhalación

Se microniza un compuesto de la invención (0,2 mg) y después se mezcla con lactosa (25 mg). A continuación, se carga esta mezcla combinada en un cartucho de inhalación de gelatina. El contenido del cartucho se administra usando, por ejemplo, un inhalador de polvo seco.

Como alternativa, se dispersa un compuesto micronizado de la invención (10 g) en una solución preparada mediante la disolución de lecitina (0,2 g) en agua desmineralizada (200 ml). Se seca la suspensión resultante por pulverización y luego se microniza para formar una composición micronizada que comprende partículas que tienen un diámetro medio inferior a aproximadamente 1,5 μm. A continuación, se carga la composición micronizada en cartuchos de inhalador de dosis medidas que contienen 1,1,1,2-tetrafluoroetano a presión en una cantidad suficiente para proporcionar de aproximadamente 10 μg a aproximadamente 500 μg del compuesto de la invención por dosis cuando se administra mediante el inhalador.

Como alternativa, se disuelve un compuesto de la invención (25 mg) en solución salina isotónica tamponada con citrato (pH 5) (125 ml). Se agita la mezcla y se somete a ultrasonidos hasta que se disuelve el compuesto. Se verifica el pH de la solución y se ajusta, si es necesario, a pH 5 añadiendo lentamente solución acuosa de hidróxido de sodio 1 N. La solución se administra usando un dispositivo nebulizador que proporciona de aproximadamente 10 μg a aproximadamente 500 μg del compuesto de la invención por dosis.

Ejemplos

Las siguientes preparaciones y ejemplos se proporcionan para ilustrar realizaciones específicas de la invención. Sin embargo, estas realizaciones específicas no pretenden limitar el alcance de la invención en modo alguno a menos que se indique específicamente.

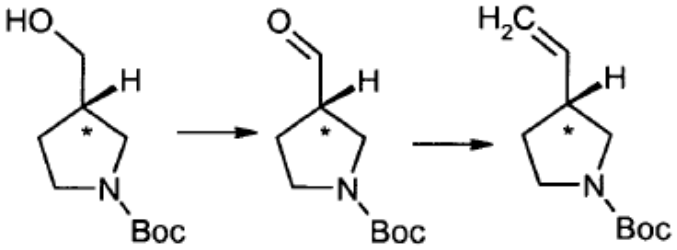
Las siguientes abreviaturas tienen los siguientes significados a menos que se indique lo contrario, y cualquier otra abreviatura usada en el presente documento y no definida tiene su significado convencional:

AcOH	ácido acético
Boc	*t*-butoxicarbonilo
BSA	albúmina de suero bovino
CPME	ciclopentilmetiléter
DCM	diclorometano (es decir, cloruro de metileno)
$(DHQ)_2Pyr$	2,5-difenil-4,6-pirimidindiildiéter de hidroquinina
DMEM	medio de Eagle modificado por Dulbecco
DMF	*N,N*-dimetilformamida
DMSO	dimetilsulfóxido
EDTA	ácido etilendiaminotetraacético
EtOAc	acetato de etilo
EtOH	etanol
FBS	suero bovino fetal
HEPES	ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazinetanosulfónico
hSERT	transportador de la serotonina humano
5-HT	5-hidroxitriptamina
IPAc	acetato de isopropilo
MeOH	metanol
MeCN	acetonitrilo
MeTHF	2-metiltetrahidrofurano
Oxone®	peroxomonosulfato de potasio
PBS	solución salina tamponada con fosfato
TEMPO	2,2,6,6-tetrametil-1-piperidiniloxi, radical libre
TFA	ácido trifluoroacético
THF	tetrahidrofurano.

Cualquier otra abreviatura usada en el presente documento, pero no definida, tiene su significado convencional aceptado en general. A menos que se indique lo contrario, todos los materiales tales como reactivos, materiales de partida y disolventes, se adquirieron de proveedores comerciales (tales como Sigma-Aldrich, Fluka Riedel-de Haën, y similares) y se usaron sin purificación adicional.

Preparación 1

t-Butiléster de ácido (*R*)-3-vinilpirrolidin-1-carboxílico



Se enfrió una solución de *t*-butiléster de ácido (*S*)-3-hidroximetil-pirrolidin-1-carboxílico (25,0 g, 124 mmol, 1,0 eq.) en DCM (200 ml) con agitación hasta 0 ºC. Se añadió una solución de bromuro de potasio (1,5 g, 12,4 mmol, 0,1 eq.) y bicarbonato sódico (1,5 g, 17,4 mmol, 0,14 eq.) disueltos en agua (100 ml). Tras 15 minutos de agitación a 0 ºC, se añadió TEMPO (195,3 mg, 1,2 mmol, 0,01 eq.), seguido de la adición lenta de hipoclorito de sodio (77,3 ml, 1,1 eq.) gota a gota manteniendo la temperatura interna en el intervalo de 6 a 8 ºC. Se colocó la mezcla en un baño de hielo hasta que se separaron las capas. Se separó la capa orgánica y se extrajo la capa acuosa con DCM (200 ml). Se lavaron las capas orgánicas combinadas con NaCl acuoso saturado (200 ml), se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron, proporcionando *t*-butiléster de ácido (*S*)-3-formilpirrolidin-1-carboxílico (21,5 g).

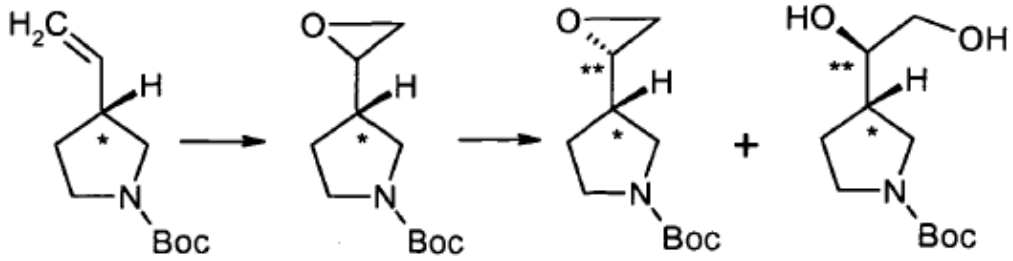
Se enfrió una suspensión de bromuro de metiltrifenilfosfonio (16,1 g, 45,2 mmol, 3,0 eq.) en THF (50 ml) hasta -78 ºC. Se añadió bis(trimetilsilil)amida de sodio 1 M en THF (38,0 ml, 2,8 eq.), y se agitó la mezcla durante 30

minutos. Se añadió lentamente una solución de *t*-butiléster de ácido (*S*)-3-formilpirrolidin-1-carboxílico (3,0 g, 15,0 mmol, 1,0 eq.) en THF (10 ml), y se agitó la mezcla a -78 ºC durante 2 horas. Se calentó la mezcla hasta la temperatura ambiente durante 3 horas y se inactivó la reacción con NH_4Cl medio saturado (50 ml). Se lavó la capa orgánica con NaCl acuoso saturado (50 ml). Se recogió la capa orgánica, se secó sobre $MgSO_4$, se filtró y se concentró. Se suspendió el aceite resultante en hexanos (50 ml) y se separó el precipitado por filtración. Se concentró el filtrado, se diluyó con hexanos (25 ml) y se enfrió hasta -20 ºC durante la noche. Se separó el precipitado por filtración y se purificó el filtrado por cromatografía en columna (EtOAc al 0-100 % en hexanos), proporcionando *t*-butiléster de ácido (*R*)-3-vinilpirrolidon-1-carboxílico en forma de un aceite (2,1 g).

RMN de ^1H (400 MHz, DMSO): δ (ppm) = 5,81-5,71 (m, 1H), 5,13-5,07 (m, 1H), 5,05-5,01 (m, 1H), 3,56-3,42 (m, 2H), 3,32-3,24 (m, 1H), 3,08-3,0 (m, 1H), 2,83-2,71 (m, 1H), 2,04-1,95 (m, 1H), 1,74-1,60 (m, 1H), 1,45 (s, 9H).

Preparación 2

t-Butiléster de ácido (*S*)-(*S*)-3-oxiranilpirrolidin-1-carboxílico y t-butiléster de ácido (*S*)-3-((*R*)-1,2-dihidroxietil)pirrrolidin-1-carboxílico



A *t*-butiléster de ácido (*R*)-3-vinilpirrolidon-1-carboxílico (6,1 g, 30,8 mmol, 1,0 eq.), se añadió 3-piridincarbonitrilo (320 mg, 3,1 mmol, 0,1 eq.) y metiltrioxorrenio (VII) (192 mg, 769 μmol, 0,025 eq.). Se agitó la mezcla hasta homogeneizarla. Se añadió peróxido de hidrógeno al 30 % (33:77, peróxido de hidrógeno:H_2O, 4,1 ml, 1,3 eq), y se colocó la mezcla en un baño de agua con hielo y se agitó durante 2 horas. Se añadió más metiltrioxorenio (VII) (50 mg). Se recogió la capa orgánica y se lavó con una solución saturada de metabisulfito de sodio bajo un baño de hielo. Se lavó el material con NaCl acuoso saturado. Se recogió la capa orgánica, se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró. Se inactivó cuidadosamente la capa de peróxido mediante la adición de hielo seguido de la adición de una solución saturada de metabisulfito de sodio gota a gota a 0 ºC. Se purificó el producto en bruto por cromatografía en columna (EtOAc al 0-100 % en hexanos), dando *t*-butiléster de ácido (*S*)-3-oxiranilpirrolidin-1-carboxílico como un aceite amarillento (4,2 g)

RMN de ^1H (400 MHz, DMSO): δ (ppm) = 3,38-3,28 (m, 2H), 3,24-3,12 (m, 1H), 3,08-2,98 (m, 1H), 2,94-2,88 (m, 1H), 2,72-2,66 (m, 1H), 2,52-2,46 (m, 1H), 2,28-2,00 (m, 1H), 1,98-1,84 (m, 1H), 1,76-1,60 (m, 1H), 1,40 (s, 9H).

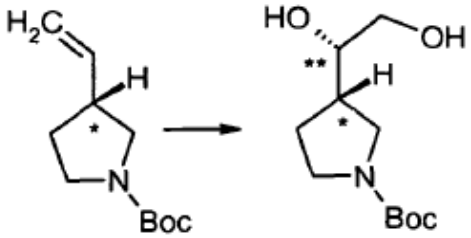
Se disolvió (*S,S*)-(+)-*N,N'*-bis(3,5-di-*t*-butilsaliciliden)-1,2-ciclohexanodiaminocobalto (II) (24,1 mg, 39,8 μmol) en tolueno (2,0 ml). Se añadió AcOH (4,5 μl), y se agitó la mezcla resultante a temperatura ambiente durante 1 hora bajo aire. A continuación, se concentró la mezcla y se secó al vacío. Se añadió *t*-butiléster de ácido (*S*)-3-oxiranilpirrolidin-1-carboxílico (1,7 g, 8,0 mmol), seguido de agua (71,8 μl), y se agitó la mezcla resultante vigorosamente durante 6 horas. Se añadieron hexanos (10 ml). A continuación, se recogió la capa de hexanos. Se lavó la capa inferior de aceite negro que contenía el diol dos veces con hexanos (10 ml). Se combinaron los lavados de hexano y se dejaron reposar a -20 ºC durante la noche. A continuación, se decantó la solución de hexano y se concentró.

El aceite resultante se purificó por cromatografía de columna ultrarrápida (EtOAc al 0-100 % en hexanos), proporcionando *t*-butiléster de ácido (*S*)-(*S*)-3-oxiranilpirrolidin-1-carboxílico en forma de un aceite (750 μg): RMN de ^1H (400 MHz, DMSO): δ (ppm) = 3,54-3,27 (m, 2H), 3,41-3,28 (m, 1H), 3,25-3,11 (m, 1H), 3,11-2,97 (m, 1H), 2,91 (ddd, J = 6,6; 4,0; 2,7 Hz, 1H), 2,69 (dd, J = 4,8; 4,1 Hz, 1H), 2,55-2,50 (m, 1H), 2,06 (dc, J = 14,1; 7,2 Hz, 1H), 1,98-1,84 (m, 1H), 1,78-1,60 (m, 1H), 1,39 (s, 9H).

Se disolvieron los aceites negros en DCM y se purificaron por cromatografía de columna ultrarrápida (MeOH al 10-15 % en DCM), proporcionando *t*-butiléster de ácido (*S*)-3-((*R*)-1,2-dihidroxietil)pirrolidin-1-carboxílico en forma de un aceite negro (0,680 μg):RMN de ^1H (400 MHz, DMSO): δ (ppm) = 5,75 (s, 1H), 4,63 (d, J = 5,1 Hz, 1H), 4,52 (t, J = 5,5 Hz, 1H), 3,43-3,23 (m, 4H), 3,16-3,00 (m, 1H), 2,94 (dt, J = 13,4, 10,1 Hz, 1H), 2,17 (cd, J = 15,2; 7,3 Hz, 1H), 1,96-1,74 (m, 1H), 1,75-1,54 (m, 1H), 1,38 (s, 9H).

Preparación 3

t-Butiléster de ácido (*S*)-3-((*S*)-1,2-dihidroxietil)pirrolidin-1-carboxílico



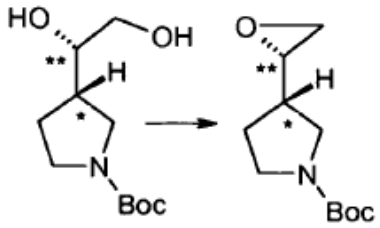
Se combinaron ferricianuro de potasio (III) (2,3 kg, 6,8 mol, 3,0 eq.), carbonato de potasio (943,0 g, 6,8 mol, 3,0 eq.), osmiato de potasio, dihidrato (1,7 g, 4,6 mmol), $(DHQ)_2Pyr$ (20 g, 20 mmol, 0,01 eq.) y alcohol t-butílico (6,1 l), en agua (6,9 l). Se agitó la mezcla durante 30 minutos, y después se enfrió hasta 3 ºC. Se añadió *t*-butiléster de ácido (*R*)-3-vinilpirrolidon-1-carboxílico (460 g, 2,3 mol, 1,0 eq.) en alcohol t-butílico (766,7 ml), y se dejó enfriar la mezcla hasta 1 ºC. Se agitó la mezcla durante la noche y, a continuación, un análisis IPC (GC) indicó que el producto de reacción era una mezcla 2:98 de los isómeros *SR*:*SS*. Se calentó la mezcla hasta 25 ºC y se añadió agua (3 l), produciendo una suspensión parcial. Se dejaron separar las capas. Se extrajo la capa acuosa de nuevo con IPAc (4 l), y después se agitó durante 30 minutos a 25 ºC. Se diluyó la capa acuosa adicionalmente con agua y se volvió a extraer con IPAc (4 l). Se separaron las capas y se eliminó la fase acuosa. Se combinó la capa orgánica restante con las capas orgánicas separadas previamente, y se lavó con una solución acuosa saturada de NH_4Cl en agua (3 l). Se separaron las capas y se concentró la capa orgánica a presión reducida, proporcionando una solución espesa. Esta solución se recogió con IPAc (1,5 l).

Se sembró la mezcla con *t*-butiléster de ácido (*S*)-3-((*S*)-1,2-dihidroxietil)pirrolidin-1-carboxílico (preparado de la manera descrita anteriormente) y se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente. La cristalización comenzó después de algunos minutos de agitación. Se enfrió la suspensión hasta 2 ºC y se agitó a esa temperatura durante 2 días. Se filtró la suspensión y se lavó la torta resultante con IPAc (153 ml), después se secó al vacío, proporcionando el compuesto del título (370 g, pureza del 99 %).

Se concentró el licor madre (que contenía una mezcla 2:98 de los isómeros *SR:SS*), proporcionando un aceite espeso/sólido y se recogió en IPAc (307 ml), formándose una suspensión. Esto se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente. Se filtró la suspensión, se lavó con IPAc (5 ml) y se secó, proporcionando 100 g más (pureza del 97 %) del compuesto del título.

Preparación 4

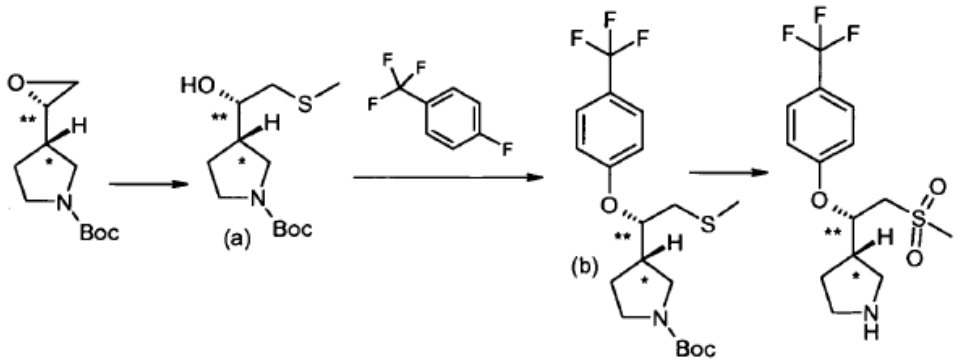
t-Butiléster de ácido (*S*)-(*S*)-3-oxiranilpirrolidin-1-carboxílico



Se combinó *t*-butiléster de ácido (*S*)-3-((*S*)-1,2-dihidroxietil)pirrolidin-1-carboxílico (230 g, 990 mmol, 1,0 eq) con MeTHF (4,9 kg, 57 mol) y se enfrió hasta 0 ºC. Se añadió *t*-butóxido de sodio 2,0 M en THF (994 ml, 2,0 eq.) gota a gota durante 20 minutos. Se agitó la mezcla a -1 ºC durante 15 minutos, y después se enfrió hasta -7 ºC. Se añadió *p*-(tolilsulfonil)imidazol (243 g, 1,1 mol, 1,1 eq.) y se agitó la mezcla resultante a 0 ºC durante 2 horas. Se inactivó la reacción con H_2O fría (5,7 kg, 320 mol). Se añadieron hexanos (1,8 kg, 21 mol) y se calentó la mezcla a 23 ºC, y se agitó durante aproximadamente 30 minutos. Se dejaron sedimentar las capas, se separaron las fases y se enjuagó el recipiente de reacción con MeTHF (100 ml). Se retiró la capa orgánica (~ 8 l) y se almacenó a 5 ºC durante la noche, después se filtró a través de Na_2SO_4 y se concentra a una presión de 7,99-3,99 kPa (60-30 torr) con un baño de agua a 25 ºC, proporcionando el compuesto del título (220 g).

Ejemplo 1

(*S*)-3-[(*S*)-2-Metanosulfonil-1-(4-trifluorometilfenoxi)etil]pirrolidina



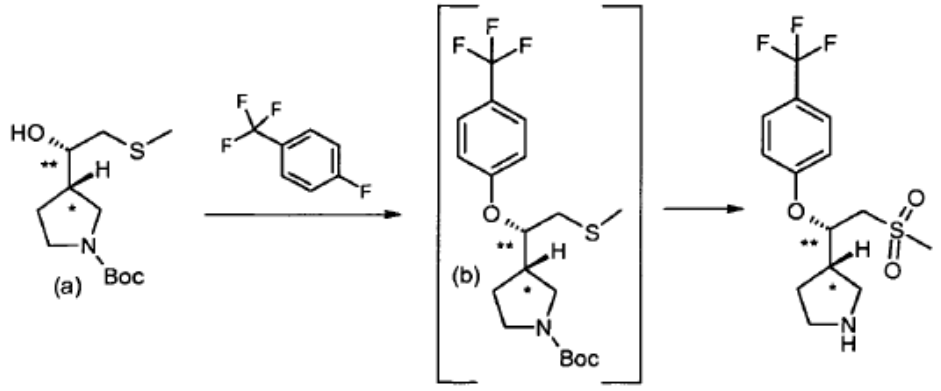
Se disolvieron *t*-butiléster de ácido (*S*)-(*S*)-3-oxiranilpirrolidin-1-carboxílico (150 mg, 0,7 mmol, 1,0 eq) y metilmercáptido de sodio (123 mg, 1,8 mmol, 2,5 eq) en THF (0,8 ml). Se dejó reaccionar la solución resultante en un reactor de microondas durante 30 minutos a 100 ºC. Se diluyó la mezcla en bruto con hexanos (15 ml) y agua (10 ml). Se recogió la capa orgánica, se secó bajo Na_2SO_4, se filtró y se concentró, proporcionando el compuesto en bruto (a).

A continuación, se disolvió el compuesto (a) en DMF (2,9 ml). Se añadió NaH (50,6 mg, 2,1 mmol, 3,0 eq.) y se agitó la mezcla resultante durante 10 minutos. Se añadió 1-fluoro-4-trifluorometilbenceno (268 µl, 3,0 eq.) y la mezcla se calentó hasta 100 ºC durante 1,5 horas. Se enfrió la mezcla hasta la temperatura ambiente y se concentró a presión reducida, proporcionando el compuesto en bruto (b).

Se disolvió el compuesto (b) en MeOH (42,7 ml) y Oxone® 0,4 M en agua (17,3 ml). Se agitó la solución resultante a temperatura ambiente durante 1 hora, y después se filtró y se concentró a presión reducida. Se disolvió el material en bruto en 1,2 M de HCl en EtOH (0,7 ml), se agitó durante la noche a temperatura ambiente, y después se concentró a presión reducida. Se disolvió el residuo en bruto en AcOH/agua 1:1 (5,0 ml), se filtró y se purificó por HPLC preparativa ($MeCN/H_2O$ al 10-70 % durante 50 minutos en una columna BDS de 25,4 mm (1 pulgada)), proporcionando el compuesto del título en forma de una sal TFA (26,8 mg). MS *m/z*: $[M + H]^+$ calculado para $C_{14}H_{18}F_3NO_3S$, 338,10; encontrado 338,0.

RNN de ^1H (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 9,53-9,37 (m, 1H), 9,32 (s a, 1H), 7,60 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 7,15 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 5,14 (dd, J = 10,5; 5,3 Hz, 1H), 3,87-3,63 (m, 2H), 3,62-3,51 (m, 1H), 3,51-3,33 (m, 2H), 3,33-3,18 (m, 1H), 3,18-3,00 (m, 1H), 2,95 (s, 3H), 2,33-2,19 (m, 1H), 2,03-1,85 (m, 1H).

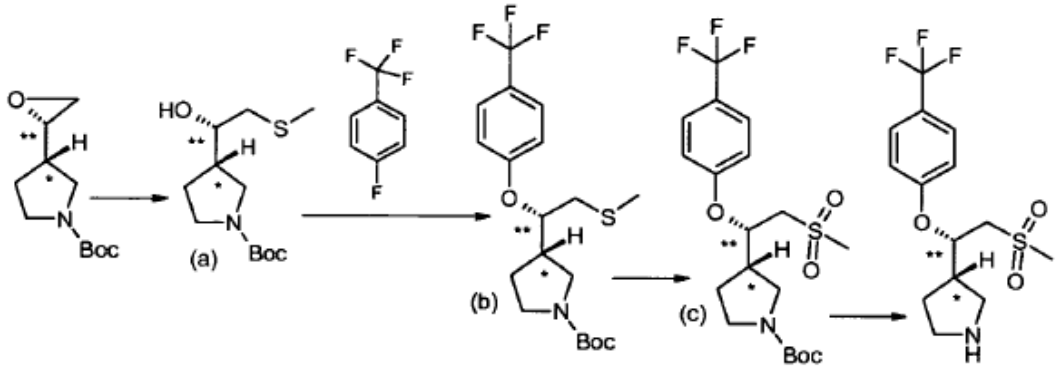
Sal monoclorhidrato



Se añadió NaH (120,6 mg, 5,0 mmol, 3,0 eq.) a una mezcla de compuesto (a) (438 mg, 1,7 mmol, 1,0 eq.) en DMF (6,9 ml). Se agitó la mezcla resultante durante 10 minutos. Se añadió 4-fluorobenzotrifluoruro (638,0 µl, 3,0 eq.) y se calentó la mezcla a 100 ºC durante 1,5 horas. Se enfrió la mezcla hasta ka temperatura ambiente y se concentró. Se disolvió el material restante en MeOH (101,8 ml) y Oxone® 0,41 M en agua (41,2 ml). Se agitó la solución resultante a temperatura ambiente durante 1 hora. Después, se filtró la solución y se concentró usando un evaporador. Se disolvió el residuo en bruto en AcOH/agua 1:1 (15,0 ml), se filtró y se purificó por HPLC preparativa ($MeCN/H_2O$ AL

10-70 % durante 50 minutos en una columna de BDS de 25,4 mm (1 pulgada)) en dos lotes. Se identificó tanto producto protegido como desprotegido en las fracciones. Se recogieron por separado y se liofilizaron. La fracción protegida se disolvió en 1,2 M de HCl en EtOH (14,0 ml), y la solución resultante se agitó durante la noche y luego se concentró, proporcionando el compuesto del título en forma de una sal HCl (78 mg). MS *m/z:* $[M + H]^+$ 338,2.

Preparación de la forma anhidra I y la forma anhidra II de la sal cristalina de clorhidrato de (*S*)-3-[(*S*)-2-metanosulfonil-1-(4-trifluorometilfenoxi)etil]pirrolidina



Se combinó *t*-butiléster de ácido (*S*)-(*S*)-3-oxiranilpirrolidin-1-carboxílico (440,0 g, 2,0 mol, 1,0 eq.) con DMF (2 l) a 15 ºC. Mientras se agitaba, se añadió metilmercáptido de sodio (149 g, 2.070 mmol, 0,1 eq.) en 5 porciones durante 30 minutos, manteniendo la temperatura por debajo de 25 ºC. Se enfrió la mezcla hasta 18 ºC, y se añadió más metilmercáptido de sodio (7 g, 100 mmol), y se agitó la mezcla durante 30 minutos a 25 ºC. Se enfrió la mezcla hasta 0 ºC y se añadió agua (10 kg) con agitación. Se añadió IPAc (9 kg, 80 mol), se calentó la mezcla hasta 20 ºC y se agitó durante 30 minutos para permitir la separación de fases. Se retiró la capa acuosa y se añadió una solución saturada de NH_4Cl (0,37:0,63, NH_4Cl:H_2O, 5 l) a la capa orgánica. Se agitó la mezcla durante 30 minutos a 25 ºC, se dejaron separar las capas y se eliminó la capa acuosa. Se concentró la capa orgánica por evaporación rotatoria, proporcionando un aceite amarillo (430 g). Se mantuvieron las capas acuosas a 5 ºC durante 2 días, se calentaron hasta la temperatura ambiente y se volvieron a extraer con IPAc (1,2 l). Se lavó la capa orgánica resultante con una solución saturada de NH_4Cl, se separaron las capas y se concentró la capa orgánica a presión reducida, proporcionando un aceite de color amarillo (19 g). Se recogieron los dos residuos de aceite en IPAc (1 l) y se concentraron a presión reducida, proporcionando el compuesto en bruto que contenía compuesto (a) en forma de un aceite amarillo (455,0 g) y disolventes residuales.

Se añadió DMF (900 g, 10 mol) al compuesto (a) (448,0 g, 1,7 mol, 1,0 eq.) y se agitó, obteniéndose una solución homogénea. La solución se procesó en dos lotes idénticos de igual cantidad. Se combinó la mitad de la mezcla (661 g) con 1-fluoro-4-trifluorometilbenceno (430,0 g, 2,6 mol, 1,5 eq.) en DMF (2 l). Se enfrió la mezcla hasta 3 ºC seguido de la adición gota a gota de 2,0 M de *t*-butóxido de sodio en THF (503,0 ml). Se agitó la mezcla durante al menos 5 horas, mientras se mantenía la temperatura a 4 ºC. Se añadieron lentamente 2 M de cloruro de amonio en agua (10 l). Se aumentó progresivamente la temperatura a 25 ºC. Se añadió IPAc (7 l) y se agitó la mezcla durante 1 hora, y se dejaron separar las fases. Se separó la capa acuosa, dejando la capa orgánica, que se concentró parcialmente a presión reducida y después se lavó con una solución de NaCl, proporcionando el compuesto en bruto (b). A continuación, se procesó la segunda mitad de la mezcla de manera similar y se combinaron los dos compuestos en bruto, proporcionando el compuesto (b) en bruto.

Se disolvió el compuesto en bruto (b) (769,0 g, 1,7 mol, 1,0 eq.) en trifluorometilbenceno (6,5 l) y se agitó a 0 ºC. Se añadió ácido etanoperoxoico (1,6 l) gota a gota, y se agitó la mezcla resultante durante 1 hora a medida que la temperatura se elevaba hasta la temperatura ambiente, y después se agitó durante una hora más a temperatura ambiente. Se enfrió la mezcla hasta 15 ºC, seguido de la inactivación lenta con agua (7 l). Se dejaron separar las fases y se lavó a capa orgánica con una solución de bicarbonato de sodio al 7,5 % (0,75:9,25, carbonato de sodio:H_2O, 7 l). Se agitó la mezcla durante 30 minutos a 22 ºC y se separaron las capas. Se secó la capa orgánica sobre Na_2SO_4 y se retiró el disolvente por evaporación rotatoria, proporcionando un aceite amarillo espeso. Se añadió CPME (2,5 l) y se mezcló a 20 ºC, seguido de la adición de heptanos (1,7 l) y el compuesto sólido (c) preparado previamente (1 g). Se agitó la mezcla durante 1 hora, seguido de la adición lenta de heptanos (1,6 l). Se filtró la suspensión espesa resultante y se lavó la torta del filtro con hexanos, y se secó en atmósfera de nitrógeno durante 2 días, proporcionando el compuesto (c).

Se añadió lentamente HCl 3,0 M en CPME (2,0 l) a una mezcla de compuesto (c) (318,9 g, 729,0 mmol, 1,0 eq.) y CPME (1,3 l). Se agitó la mezcla resultante a 20 ºC durante la noche. Se añadió más HCl 3,0 M en CPME (2,0 l) y se volvió a agitar la mezcla de nuevo a 20 ºC durante la noche. Se drenó el recipiente de reacción y se aclaró con

CPME (500 ml) y los lavados se combinaron con la suspensión. Se filtró la suspensión y se lavó la torta con CPME (200 ml), se secó en atmósfera de nitrógeno durante la noche, se secó al vacío durante 6 horas a 30 ºC, y a temperatura ambiente durante 2 días, proporcionándose un material cristalino de HCl (239,10 g, pureza del 99 %). Este material se caracterizó y se designó Forma anhidra I.

Se filtró una porción de la solución (10 ml) por separado y se secó al aire durante 3 días, proporcionándose un material cristalino de HCl (1,3 g, pureza del 99 %). Se caracterizó este material y se resultó ser diferente del material aislado anteriormente y, por lo tanto, se designó Forma anhidra II.

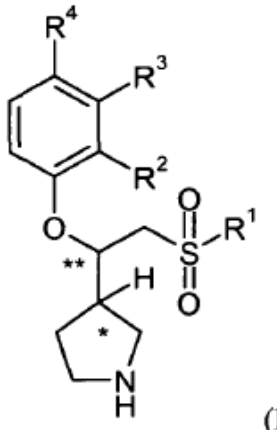
Se volvió a lavar el recipiente de reacción con CPME (1,5 l) y H_2O (500 g) para recoger los sólidos restantes. Se concentró la solución a sequedad y se recogió en CPME (500 ml), se concentró de nuevo, se recogió en CPME (500 ml) y H_2O (50 g), y se dejó cristalizar durante la noche). Se recogieron los sólidos, se lavaron con CPME (50 ml) y se secaron en atmósfera de nitrógeno durante la noche, proporcionando más material cristalino (20,1 g, pureza del 99 %). Se caracterizó este material y resultó ser la Forma anhidra II.

Sal cristalina de clorhidrato de (*S*)-3-[(*S*)-2-metanosulfonil-1-(4-trifluorometilfenoxi)etil]pirrolidina monohidratada

Se expusieron las partículas sólidas de la Forma anhidra I a humedad relativa del 75 % durante un día. Se caracterizó el material resultante y resultó ser un monohidrato.

Ejemplo 2

Siguiendo los procedimientos descritos en los ejemplos anteriores, y sustituyendo los materiales de partida y reactivos apropiados, se prepararon los compuestos 2-1 a 2-28, que tienen la fórmula IIIa:



(IIIa)

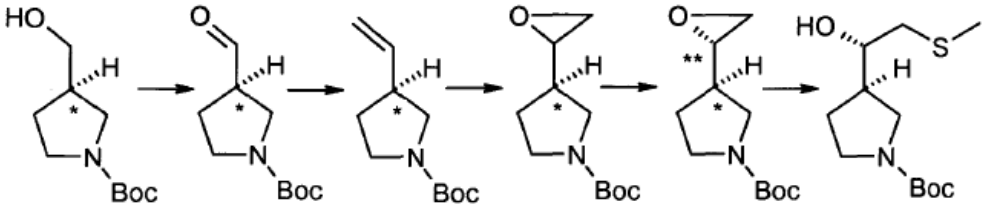
Ej.	R^1	R^2	R^3	R^4	Fórmula	MS *m/z*: $[M+H]^+$	
						Calculado	Encontrado
1	$-CH_3$	H	H	$-CF_3$	$C_{14}H1_8F_3NO_3S$	338,10	338,4
2	$-CH_3$	H	H	$-CF_3$	$C1_4H_{18}F_3NO_3S$	338,10	338,3
3	$-CH_3$	H	H	$-CF_3$	$C_{14}H_{18}F_3NO_3S$	338,10	338,3
4	$-CH_3$	H	H	-Cl	$C_{13}H_{18}ClNO_3S$	304,07	304,0
5	$-CH_3$	H	H	$-NO_2$	$C_{13}H_{18}N_2O_5S$	315,09	315,0
6	$-CH_3$	H	H	$-NO_2$	$C_{13}H_{18}N_2O_5S$	315,09	315,0
7	$-CH_3$	H	H	$-NO_2$	$C_{13}H_{18}N_2O_5S$	315,09	315,0
8	$-CH_3$	H	H	$-NO_2$	$C_{13}H_{18}N_2O_5S$	315,09	315,0
9	$-CH_3$	H	H	$-OCF_3$	$C_{14}H_{18}F_3NO_4S$	354,09	354,4
10	$-CH_3$	H	H	$-OCF_3$	$C_{14}H_{18}F_3NO_4S$	354,09	354,0
11	$-CH_3$	H	H	$-OCF_3$	$C_{14}H_{18}F_3NO_4S$	354,09	354,0

Ej.	R^1	R^2	R^3	R^4	Fórmula	MS *m/z*: $[M+H]^+$	
						Calculado	Encontrado
12	$-CH_2CH_3$	H	H	$-CF_3$	$C_{15}H_{20}F_3NO_3S$	352,11	352,0
13	$-CH(CH_3)_2$	H	H	$-CF_3$	$C_{16}H_{22}F_3NO_3S$	366,13	366,0
14	$-(CH_2)_2-NHC(O)CH_3$	H	H	$-CF_3$	$C_{17}H_{23}F_3N_2O_4S$	409,13	409,0
15	$-(CH_2)_2-OH$	H	H	$-CF_3$	$C_{15}H_{20}F_3NO_4S$	368,11	368,0
16	$C(O)O-CH_3$	H	H	$-CF_3$	$C_{16}H_{20}F_3NO_5S$	396,10	396,0
17	fenilo	H	H	$-CF_3$	$C_{19}H_{20}F_3NO_3S$	400,11	400,0
18	4-fenilacetamida	H	H	$-CF_3$	$C_{21}H_{23}F_3N_2O_4S$	457,13	457,0
19	4-piridilo	H	H	$-CF_3$	$C_{18}H_{19}F_3N_2O_3S$	401,11	401,0
20	$-CH_3$	H	-CN	$-CF_3$	$C_{15}H_{17}F_3N_2O_3S$	363,09	363,0
21	$-CH_3$	H	-CN	$-CF_3$	$C_{15}H1_7F_3N_2O_3S$	363,09	363,0
22	$-CH_3$	H	-CN	-Cl	$C_{14}H_{17}ClN_2O_3S$	329,07	329,0
23	$-CH_3$	H	-CN	-Cl	$C_{14}H_{17}ClN_2O_3S$	329,07	329,0
24	$-CH_3$	H	-CN	-Cl	$C_{14}H_{17}ClN_2O_3S$	329,07	329,0
25	$-CH_3$	$-OCH_3$	H	$-NO_2$	$C_{14}H_{26}N_2O_6S$	345,10	345,0
26	$-CH_3$	$-OCH_3$	H	$-NO_2$	$C_{14}H_{20}N_2O_6S$	345,10	345,0
27	$-CH_3$	$-OCH_3$	H	$-NO_2$	$C_{14}H_{20}N_2O_6S$	345,10	345,0
28	$-CH_3$	$-CH_3$	H	-Cl	$C_{14}H_{20}ClNO_3S$	318,09	318,0

1. (*S*)-3-[(*R*)-2-Metanosulfonil-1-(4-trifluorometilfenoxi)etil]pirrolidina
2. (R)-3-[(*R*)-2-Metanosulfonil-1-(4-trifluorometilfenoxi)etil]pirrolidina
3. (*R*)-3-[(*S*)-2-Metanosulfonil-1-(4-trifluorometilfenoxi)etil]pirrolidina
4. (*S*)-3-[(*R*)-1-(4-Clorofenoxi)-2-metanosulfoniletil]pirrolidina
5. (*S*)-3-[(*S*)-2-Metanosulfonil-1-(4-nitro-fenoxi)etil]pirrolidina
6. (*S*)-3-[(*R*)-2-Metanosulfonil-1-(4-nitro-fenoxi)etil]pirrolidina
7. (*R*)-3-[(*S*)-2-Metanosulfonil-1-(4-nitro-fenoxi)etil]pirrolidina
8. (*R*)-3-[(*R*)-2-Metanosulfonil-1-(4-nitro-fenoxi)etil]pirrolidina
9. (*S*)-3-[(*S*)-2-Metanosulfonil-1-(4-trifluorometoxifenoxi)etil]pirrolidina
10. (*S*)-3-[(*R*)-2-Metanosulfonil-1-(4-trifluorometoxifenoxi)etil]pirrolidina
11. (*R*)-3-[(*S*)-2-Metanosulfonil-1-(4-trifluorometoxifenoxi)etil]pirrolidina
12. (*S*)-3-[(*S*)-2-Etanosulfonil-1-(4-trifluorometil-fenoxi)etil]pirrolidina
13. (*S*)-3-[(*S*)-2-(Propano-2-sulfonil)-1-(4-trifluorometilfenoxi)etil]pirrolidina
14. N-{2-[(*S*)-2-(*S*)-Pirrolidin-3-il-2-(4-trifluorometilfenoxi)etanosulfonil]-etil}-acetamida
15. 2-[(*S*)-2-(*S*)-Pirrolidin-3-il-2-(4-trifluorometilfenoxi)etanosulfonil]etanol
16. Metiléster de ácido [(*S*)-(*S*)-pirrolidin-3-il-(4-trifluorometilfenoxi)etanosulfonil]acético
17. (*S*)-3-[(*S*)-2-Bencenosulfonil-1-(4-trifluorometilfenoxi)etil]pirrolidina
18. *N*-{4-[(*S*)-2-(*S*)-Pirrolidin-3-il-2-(4-trifluorometilfenoxi)etanosulfonil]-fenil}-acetamida
19. 4-[(*S*)-2-(*S*)-Pirrolidin-3-il-2-(4-trifluorometilfenoxi)etanosulfonil]piridina
20. 5-(*S*)-2-Metanosulfonil-1-(*S*)-pirrolidin-3-iletoxi)-2-trifluorometilbenzonitrilo
21. 5-(*S*)-2-Metanosulfonil-1-(*R*)-pirrolidin-3-iletoxi)-2-trifluorometil-benzonitrilo
22. 2-Cloro-5-((*S*)-2-metanosulfonil-1-(*S*)-pirrolidin-3-iletoxi)benzonitrilo
23. 2-Cloro-5-((*R*)-2-metanosulfonil-1-(*S*)-pirrolidin-3-iletoxi)benzonitrilo
24. 2-Cloro-5-(*S*)-2-metanosulfonil-1-(*R*)-pirrolidin-3-iletoxi)benzonitrilo
25. (*S*)-3-[(*R*)-2-Metanosulfonil-1-(2-metoxi-4-nitrofenoxi)etil]pirrolidina
26. (*R*)-3-[(*S*)-2-Metanosulfonil-1-(2-metoxi-4-nitrofenoxi)etil]pirrolidina
27. (*R*)-3-[((*R*)-2-Metanosulfonil-1-(2-metoxi-4-nitrofenoxi)etil]pirrolidina
28. (*S*)-3-[(*R*)-1-(4-Cloro-2-metilfenoxi)-2-metanosulfoniletil]pirrolidina.

Preparación 5

t-Butiléster de ácido (*R*)-3-((*S*)-1-hidroxi-2-metilsulfaniletil)pirrolidin-1-carboxílico



Se combinó una solución de *t*-butiléster de ácido (*R*)-3-hidroximetil-pirrolidin-1-carboxílico (50,0 g, 248,4 mmol, 1,0 eq.) en DCM (883 ml) con TEMPO (1,9 g, 12,4 mmol, 0,05 eq.) y bromuro de sodio (2,6 g, 24,8 mmol, 0,1 eq.). Se enfrió la solución hasta 0 ºC. Se añadió una solución de hipoclorito de sodio (272,1 ml, 1,5 eq.) y bicarbonato sódico (31,2 g, 1,5 eq.). Al término de la reacción, se extrajo la mezcla con DCM (3 x 200 ml) y se secó sobre Na_2SO_4, proporcionando *t*-butiléster de ácido (*R*)-3-formilpirrolidin-1-carboxílico (50 g).

Se enfrió una suspensión de bromuro de metiltrifenilfosfonio (450 g, 1,3 mmol, 3,0 eq.) en THF (200 ml) hasta -78 ºC. Se añadió bis(trimetilsilil)amida de sodio 2 M (580 ml, 2,8 eq.) y la mezcla se agitó durante 3 horas. Se añadió una solución de *t*-butiléster de ácido (*R*)-3-formilpirrolidin-1-carboxílico (84 g, 421,6 mmol, 1,0 eq.) en THF (100 ml) gota a gota a -65 ºC. Al término de la reacción, se purificó el producto por cromatografía en columna (malla 200-300, hexanos:EtOAc = 1:3, 3 l), proporcionando *t*-butiléster de ácido (*S*)-3-vinil-pirrolidin-1-carboxílico (40 g).

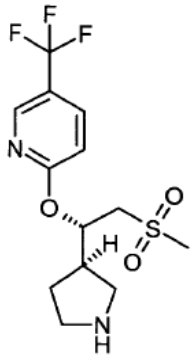
A *t*-butiléster de ácido (*S*)-3-vinil-pirrolidin-1-carboxílico (50 g, 253,4 mmol, 1,0 eq.), Se añadió 3-piridincarbonitrilo (2,7 g, 25,3 mmol, 0,1 eq.) y metiltrioxorenio (VII) (1,3 g, 5,1 mmol, 0,02 eq.). Se agitó la mezcla hasta volverse homogénea. Se añadió peróxido de hidrógeno al 30 % (1 1,2 g, 329,5 mmol, 1,3 eq), y se mantuvo la mezcla por debajo de 35 ºC. Después, se extrajo la mezcla con EtOAc, se lavó con agua, se secó sobre Na_2SO_4 y se purificó por cromatografía en columna (hexanos:EtOAc = 1:3, 3 l), dando *t*-butiléster de ácido (*R*)-3-oxiranilpirrolidin-1-carboxílico (35 g).

Se combinó *t*-butiléster de ácido (*R*)-3-oxiranilpirrolidin-1-carboxílico (30 g, 140,6 mmol, 1,0 eq.) con (*S,S*)-Salen Co (II) (418 mg, 0,7 mmol). Se añadió agua (1/3 ml), y se agitó la mezcla resultante vigorosamente durante 6 horas. Se añadieron hexanos (200 ml). Se trituraron los sólidos resultantes y se agitaron en hexanos, proporcionando un precipitado amarillo. Se purificó el precipitado por cromatografía en columna (malla 200-300, hexanos:EtOAc = 1:3, 3 l), proporcionando *t*-butiléster de ácido (*R*)-(*S*)-3-oxiranilpirrolidin-1-carboxílico.

Se combinó *t*-butiléster de ácido (*R*)-(*S*)-3-oxiranilpirrolidin-1-carboxílico (1,0 g, 4,7 mmol, 1,0 eq.) en DMF (10 ml) con metilmercáptido de sodio (2,5 g, 14,1 mmol, 3,0 eq.) y se agitó la mezcla resultante a 50 ºC durante 3 horas en atmósfera de nitrógeno. Al término de la reacción, se concentró la mezcla al vacío, se extrajo con EtOAc, se lavó con NaCl acuoso saturado y agua, se secó y se concentró. El producto en bruto se purificó por HPLC preparativa (MeCN:EtOH = 4:6), proporcionando el compuesto del título (700 mg).

Ejemplo 3

2-((*S*)-2-Metanosulfonil-1-(*R*)-pirrolidin-3-il-etoxi)-5-trifluorometilpiridina

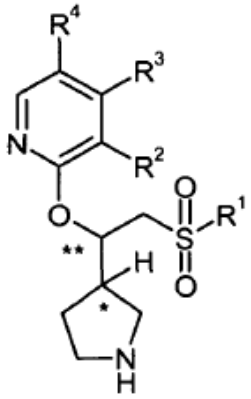


Se disolvió *t*-butiléster de ácido (*R*)-3-((*S*)-1-hidroxi-2-metilsulfaniletilo)pirrolidin-1-carboxílico (25,0 mg, 95,6 μmol, 1,0 eq.) en DMF (1,0 ml). Se añadió NaH (6,9 mg, 287 μmol, 3,0 eq.), se agitó y la mezcla resultante durante 10 minutos. Se añadió 2-fluoro-5-(trifluorometil)piridina (47,4 mg, 287 μmol, 3,0 eq.), y se calentó la mezcla hasta 70 ºC durante 1,5 horas. Se enfrió la mezcla hasta la temperatura ambiente y se concentró.

Se disolvió el material en bruto en MeOH (5,8 ml) y 0,4 M de Oxone® en agua (2,4 ml). Se agitó la solución resultante a temperatura ambiente durante 1 hora, y después se filtró y se concentró a presión reducida. Se disolvió el material en bruto en 1,2 M de HCl en EtOH (0,8 ml), se agitó durante la noche a temperatura ambiente, y después se concentró. Se disolvió el residuo en bruto en AcOH/agua 1:1 (1,5 ml), se filtró y se purificó por HPLC preparativa (MeCN/H_2O al 10-70 % durante 50 minutos en una columna BDS de 25,4 mm (1 pulgada)), proporcionando el compuesto del título en forma de una sal di-TFA (14,2 mg). MS *m/z*: $[M+H]^+$ calculado para $C_{13}H_{17}F_3N_2O_3S$: 339,09; encontrado: 339,0.

Ejemplo 4

Siguiendo los procedimientos descritos en los ejemplos anteriores, y sustituyendo los materiales de partida y reactivos apropiados, se prepararon los compuestos 4-1 y 4-3, que tienen la fórmula IIIb:



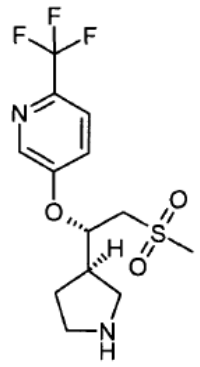
(IIIb)

Ej.	R^1	R^2	R^3	R^4	Fórmula	MS *m/z*: $[M+H]^+$	
						Calculado	Encontrado
1	$-CH_3$	H	H	-Cl	$C_{12}H_{17}ClN_2O_3S$	305,07	305,0
2	$-CH_3$	H	H	-Cl	$C_{12}H_{17}ClN_2O_3S$	305,07	305,4
3	$-CH_3$	H	H	$-CF_3$	$C_{13}H_{17}F_3N_2O_3S$	339,09	339,0

1. 5-Cloro-2-((*S*)-2-metanosulfonil-1-(*S*)-pirrolidin-3-iletoxi)piridina
2. 5-Cloro-2-((*S*)-2-metanosulfonil-1-(*R*)-pirrolidin-3-iletoxi)piridina
3. 2-((*S*)-2-Metanosulfonil-1-(*S*)-pirrolidin-3-il-etoxi)-5-trifluorometil-piridina.

Ejemplo 5

5-(*S*)-2-Metanosulfonil-1-(*R*)-pirrolidin-3-il-etoxi)-2-trifluorometilpiridina



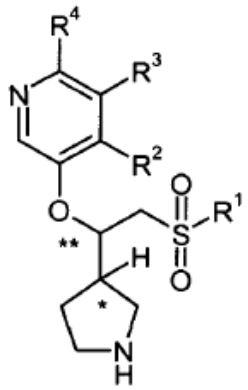
Se disolvió *t*-butiléster de ácido (*R*)-3-((*S*)-1-hidroxi-2-metilsulfaniletil)pirrolidin-1-carboxílico (25,0 mg, 95,6 μmol, 1,0 eq.) en DMF (1,0 ml). Se añadió NaH (6,9 mg, 287 μmol, 3,0 eq.) y se agitó la mezcla resultante durante 10

minutos. Se añadió 5-fluoro-2-(trifluorometil)piridina (47,4 mg, 287 μmol, 3,0 eq.) y la mezcla se calentó a 70 ºC durante 1,5 horas. Se enfrió la mezcla hasta la temperatura ambiente y se concentró.

Se disolvió el material en bruto en MeOH (5,8 ml) y 0,4 M de Oxone® en agua (2,4 ml). Se agitó la solución resultante a temperatura ambiente durante 1 hora, y después se filtró y se concentró a presión reducida. Se disolvió el material en bruto en 1,2 M de HCl en EtOH (0,8 ml), se agitó durante la noche a temperatura ambiente, y después se concentró. Se disolvió el residuo en bruto en AcOH/agua (1:1) (1,5 ml), se filtró, y se purificó por HPLC preparativa (MeCN/H_2O al 10-70 % durante 50 minutos en una columna BDS de 25,4 mm (1 pulgada)), proporcionando el compuesto del título en forma de una sal de di-TFA (16,3 mg). MS *m/z*: $[M+H]^+$ calculado para $C_{13}H_{17}F_3N_2O_3S$, 339,09; encontrado: 339,0.

Ejemplo 6

Siguiendo los procedimientos descritos en los ejemplos anteriores, y sustituyendo los materiales de partida y reactivos apropiados, se prepararon los compuestos 6-1 a 6-4, que tienen la fórmula IIIc:



(IIIc)

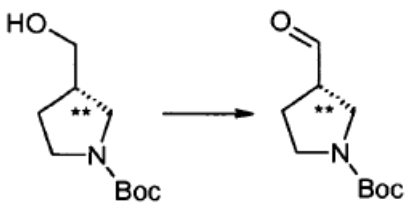
Ej.	R^1	R^2	R^3	R^4	Fórmula	MS *m/z*: $[M+H]^+$	
						Calculado	Encontrado
1	$-CH_3$	H	H	$-CF_3$	$C_{13}H_{17}F_3N_2O_3S$	339,09	339,0
2	$-CH_3$	H	H	$-CF_3$	$C_{13}H_{17}F_3N_2O_3S$	339,09	339,0
3	$-CH_3$	H	H	-Cl	$C_{12}H_{17}ClN_2O_3S$	305,07	305,0
4	$-CH_3$	H	H	-Cl	$C_{12}H_{17}ClN_2O_3S$	305,07	305,0

1. 5-((*R*)-2-Metanosulfonil-1-(*S*)-pirrolidin-3-iletoxi)-2-trifluorometilpiridina
2. 5-((*S*)-2-Metanosulfonil-1-(*S*)-pirrolidin-3-iletoxi)-2-trifluorometilpiridina
3. 2-Cloro-5-((*S*)-2-metanosulfonil-1-(*S*)-pirrolidin-3-iletoxi)piridina
4. 2-Cloro-5-((*S*)-2-metanosulfonil-1-(*R*)-pirrolidin-3-iletoxi)piridina.

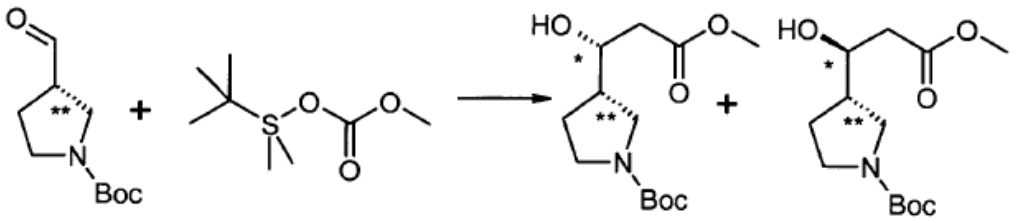
En los compuestos descritos en la Preparación 6, y el Ejemplo 7 y 8, el centro quiral * es conocido y se expone en el nombre del compuesto y/o en la tabla. Sin embargo, el centro quiral ** no se conoce de forma inequívoca.

Preparación 6

t-Butiléster de ácido (*S*)-3-[(*R*)-1-hidroxi-3-(tolueno-4-fulfoniloxi)propil]pirrolidin-1-carboxílico y *t*-butiléster de ácido (*S*)-3-[(*S*)-1-hidroxi-3-(tolueno-4-sulfoniloxi)propil]pirrolidin-1-carboxílico

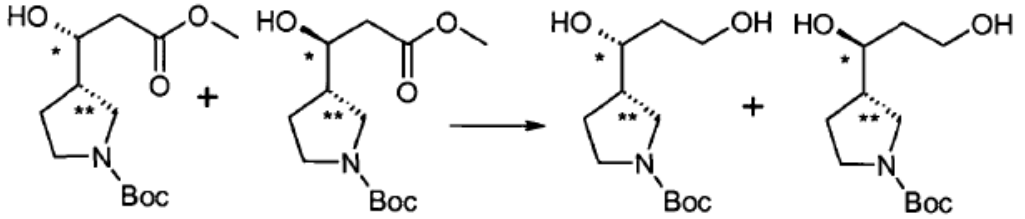


A una solución de *t*-butiléster de ácido (*S*)-3-hidroximetil-pirrolidin-1-carboxílico (21,6 g, 107 mmol, 1,0 eq.) en DCM (220 ml), se añadió TEMPO (300 mg, 2 mmol, 0,02 eq.) y bromuro de potasio (600 mg, 5 mmol, 0,05 eq.). Se enfrió esta mezcla hasta 0 ºC, y se añadió gota a gota una mezcla (1:1) previamente enfriada (a 0 ºC) de 0,7 M de hipoclorito de sodio en agua (230 ml, 1,5 eq) y solución acuosa saturada de $NaHCO_3$ (230 ml) durante un período de 90 minutos. Se extrajo la mezcla resultante con DCM (3 x 100 ml). Se lavaron las capas orgánicas combinadas con agua (2 x 100 ml), y después con NaCl acuoso saturado (1 x 100 ml). Se secó la capa orgánica sobre sulfato de sodio, se filtró y se concentró al vacío, proporcionando *t*-butiléster de ácido (*S*)-3-formilpirrolidin-1-carboxílico (14,6 g).



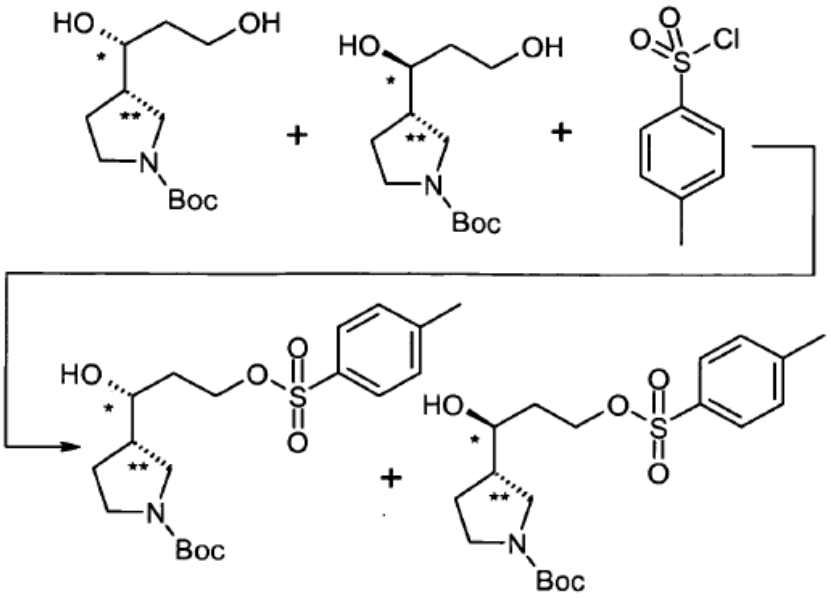
Se disolvió *t*-butiléster de ácido (*S*)-3-formilpirrolidin-1-carboxílico (350 mg, 1,8 mmol, 1,0 eq.) en DCM (18 ml), y se enfrió la solución resultante hasta -78 ºC. Se añadió 1-(t-butildimetilsililoxi)-1-metoxieteno (380 µl, 1,0 eq.), seguido de la adición de eterato de trifluoruro de boro (111 µl, 0,5 eq.) gota a gota a través de una jeringa. Se agitó la mezcla a -78 ºC durante 1 hora, y después se calentó hasta -40 ºC. Se inactivó la reacción con MeOH/trietilamina (1:1) (1,0 ml). Se calentó la mezcla hasta la temperatura ambiente y se añadió $NaHCO_3$ acuoso saturado (10 ml). Se extrajo la capa acuosa con DCM (3 x 25 ml). Se lavaron los extractos combinados con NaCl acuoso saturado y se secaron sobre sulfato de sodio. Se evaporó el disolvente al vacío y se purificó el residuo por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (EtOAc/hexanos al 0-100 %), proporcionando una mezcla (1:1) de los diastereoisómeros, *t*-butiléster de ácido (*S*)-3-[(*R*)-1-hidroxi-2-metoxicarboniletil)pirrolidin-1-carboxílico (145 mg) y *t*-butiléster de ácido (*S*)-3-[(*S*)-1-hidroxi-2-metoxicarboniletil)pirrolidin-1-carboxílico (145 mg).

Para la mezcla de diastereoisómeros: RMN de ^1H (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 3,95-3,77 (m, 1H), 3,66 (s, 3H), 3,60-3,28 (m, 2H), 3,28-3,03 (m, 2H), 3,03-2,86 (m, 1H), 2,59-2,45 (m, 0,5H), 2,45-2,34 (m, 1,5H), 2,18 (s a, 1H), 1,87-1,66 (m, 1H), 1,66-1,48 (m, 1H), 1,40 (s, 9H).



Se añadió una solución de *t*-butiléster de ácido (*S*)-3-[(*R*)-1-hidroxi-2-metoxicarboniletil)pirrolidin-1-carboxílico (145 mg, 530 µmol) y *t*-butiléster de ácido (*S*)-3-[(*S*)-1-hidroxi-2-metoxicarboniletil)pirrolidin-1-carboxílico (145 mg, 530 µmol) en THF (6,2 ml) a una solución de 2,0 M de tetrahidroaluminato de litio en THF (1,6 ml) a 0 ºC. Se agitó la mezcla a 0 ºC durante 1 hora, y se inactivó la reacción con solución acuosa saturada de $NaHCO_3$ (5 ml). Se dejó calentar la mezcla hasta la temperatura ambiente. Se añadió solución acuosa saturada de sal de Rochelle (tartrato de sodio y potasio) (20 ml) y la mezcla se agitó durante 1 hora. Se extrajo la capa acuosa con EtOAc (3 x 15 ml). Las capas orgánicas con NaCl acuoso saturado, se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron, proporcionando una mezcla de los diastereoisómeros, *t*-butiléster de ácido (*S*)-3-((*R*)-1,3-dihidroxipropil)pirrolidin-1-carboxílico (135 mg) y *t*-butiléster de ácido (*S*)-3-(S)-1,3-dihidroxipropil)pirrolidin-1-carboxílico (135 mg).

Para la mezcla de diastereoisómeros: RMN de ^1H (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 4,02-3,90 (m, 1H), 3,90-3,81 (m, 1H), 3,81-3,72 (m, 1H), 3,66-3,35 (m, 2H), 3,35-3,05 (m, 2H), 3,05-2,92 (m, 1H), 2,47-2,11 (m, 2H), 2,11-2,01 (m, 1H), 1,91-1,81 (m, 0,5H), 1,81-1,51 (m, 2,5H), 1,44 (s, 9H).

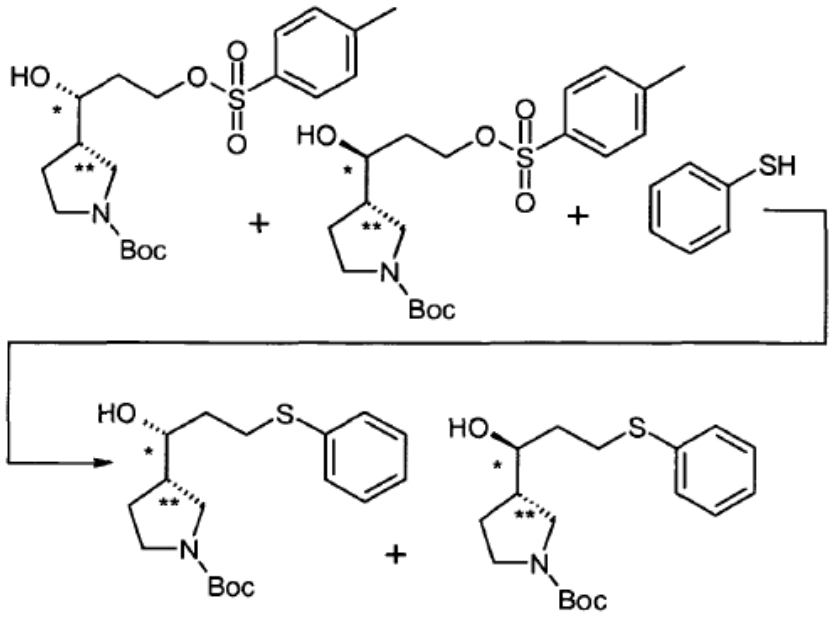


Se disolvió la mezcla de *t*-butiléster de ácido (*S*)-3-((*R*)-1,3-dihidroxipropil)pirrolidin-1-carboxílico (130 mg, 530 μmol) y *t*-butiléster de ácido (*S*)-3-((*S*)-1,3-dihidroxipropil)pirrolidin-1-carboxílico (130 mg, 530 μmol) en DCM (4 ml). Se enfrió la mezcla hasta 0 ºC y se añadió trietilendiamina (153 mg, 1,4 mmol), seguida de cloruro de *p*-toluenosulfonilo (219 mg, 1,15 mmol). Se agitó la mezcla resultante hasta 0 ºC durante 60 minutos. Se diluyó la mezcla con EtOAc (10 ml) y se lavó con agua (10 ml). Se secó la capa orgánica sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró por evaporación rotatoria, proporcionando una mezcla de los diastereoisómeros de título, *t*-butiléster de ácido (*S*)-3-[(*R*)-1-hidroxi-3-(tolueno-4-fulfoniloxi)propil]pirrolidin-1-carboxílico (220 mg) y *t*-butiléster de ácido (*S*)-3-[(*S*)-1-hidroxi-3-(tolueno-4-sulfoniloxi)propil]pirrolidin-1-carboxílico (220 mg).

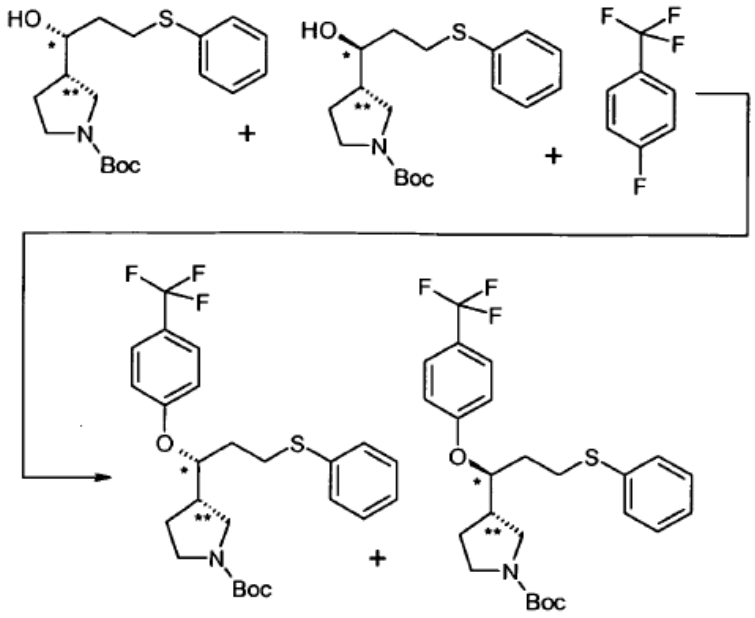
Para la mezcla de diastereoisómeros: RMN de ^1H (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 7,76 (d, J = 8,0 Hz, 2H), 7,33 (d, J = 7,8 Hz, 2H), 4,34-4,18 (m, 1H), 4,18-4,02 (m, 1,5H), 3,96 (t, J = 8,2 Hz, 0,5H), 3,63 (s, 1H), 3,46 (dd, J = 23,5; 13,3 Hz, 2H), 3,14 (dd, J = 31,2; 17,6 Hz, 2H), 3,01-2,86 (m, 1H), 2,42 (s, 3H), 2,14 (s a, 1H), 2,04-1,72 (m, 2H), 1,72-1,48 (m, 1H), 1,41 (dd, J = 2,9; 0,8 Hz, 9H).

Ejemplo 7

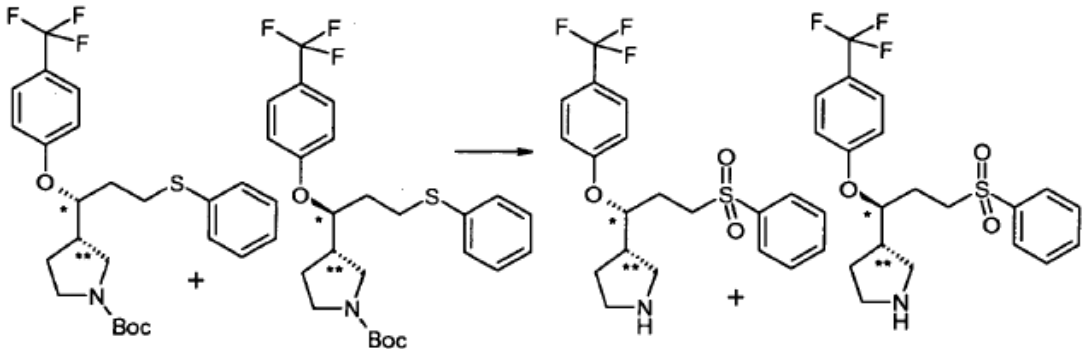
(*S*)-3-[3-Bencenosulfonil-1-(4-trifluorometilfenoxi)propil]pirrolidina



Se disolvió una mezcla de *t*-butiléster de ácido (*S*)-3-[(*R*)-1-hidroxi-3-(tolueno-4-sulfoniloxi)propil]pirrolidin-1-carboxílico (48 mg, 0,12 mmol, 1,0 eq.) y *t*-butiléster de ácido (*S*)-3-[(*S*)-1-hidroxi-3-(tolueno-4-sulfoniloxi)propil]pirrolidin-1-carboxílico (48,0 mg, 0,12 mmol, 1,0 eq.) en MeCN (1,8 ml), y se añadió bencenotiol (61,7 μl, 5,0 eq.). Se agitó la mezcla resultante durante la noche a 50 ºC. A continuación, se enfrió la mezcla hasta la temperatura ambiente y se diluyó con DCM. Se filtró la mezcla a través de un microfiltro y se concentró, proporcionando una mezcla en bruto de los diastereoisómeros de tioéter-alcohol, *t*-butiléster de ácido (*S*)-3-((*R*)-1-hidroxi-3-fenilsulfanilpropil)pirrolidin-1-carboxílico y *t*-butiléster de ácido (*S*)-3-((*S*)-1-hidroxi-3-fenilsulfanilpropil)pirrolidin-1-carboxílico.



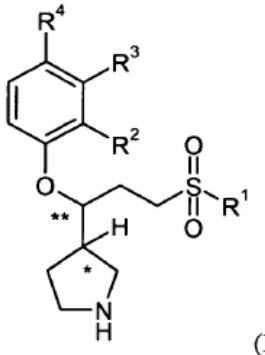
Se disolvió esta mezcla en bruto de diastereoisómeros de tioéter-alcohol en DMF (2,5 ml), y se añadió NaH (17,3 mg, 721 μmol). Se agitó la mezcla durante 10 minutos, y después se añadió 4-fluorobenzotrifluoruro (91,5 μl). Se calentó la mezcla resultante hasta 100 ºC durante 3 horas, y después se enfrió hasta la temperatura ambiente y se concentró, proporcionando una mezcla en bruto de diastereoisómeros de tioéter-feniléter, *t*-butiléster de ácido (*S*)-3-[(*R*)-3-fenilsulfanil-1-(4-trifluorometilfenoxi)propil]pirrolidin-1-carboxílico y *t*-butiléster de ácido (*S*)-3-[(*S*)-3-fenilsulfanil-1-(4-trifluorometilfenoxi)propil]pirrolidin-1-carboxílico.



Se disolvió esta mezcla en bruto de diastereoisómeros de tioéter-feniléter en MeOH (5,84 ml) y 0,4 M de Oxone® en agua (2,95 ml). Se agitó la solución resultante a temperatura ambiente durante 1 hora, y después se filtró y se concentró a presión reducida. Se disolvió el material en bruto en 1,2 M de EtOH en EtOH (0,7 ml), se agitó durante la noche a temperatura ambiente y después se concentró. Se disolvió el residuo en bruto en AcOH/agua (1:1) (18 ml), se filtró y se purificó en dos lotes mediante HPLC preparativa (MECN al 10-70 %/H_2O durante 50 minutos en una columna de BDS de 25,4 mm (1 pulgada)), proporcionando el compuesto del título como una mezcla de diastereoisómeros (46,0 mg) en forma de sales TFA. MS *m/z*: [M+H]+ calculado para $C_{20}H_{22}F_3NO_3S$: 3414,13; encontrado: 414,6.

Ejemplo 8

Siguiendo los procedimientos descritos en los ejemplos anteriores, y sustituyendo los materiales de partida y reactivos apropiados, se prepararon los compuestos 8-1 a 8-5, que tienen la fórmula IV:



(IV)

Ej.	Estereoquímica	R^1	R^2	R^3	R^4	Fórmula	MS *m/z*: $[M+H]^+$	
							Calc.	Enc.
1	Isómero *R* 1	$-CH_3$	H	H	$-CF_3$	$C_{15}H_{20}F_3NO_3S$	352,11	352,1
2	Isómero *R* 2	$-CH_3$	H	H	$-CF_3$	$C_{15}H_2OF_3NO_3S$	352,11	352,2
3	Isómero *S* 1	$-CH_3$	H	H	$-CF_3$	$C_{15}H_{20}F_3NO_3S$	352,11	352,1
4	Isómero *S* 2	$-CH_3$	H	H	$-CF_3$	$C_{15}H_{20}F_3NO_3S$	352,11	352,1
5	Mezcla de los isómeros *S* 1 y 2	$-CH-(CH_3)_2$	H	H	$-CF_3$	$C_{17}H_{24}F_3NO_3S$	380,14	380,3

1. (*R*)-3-[3-Metanosulfonil-1-(4-trifluorometilfenoxi)propil]pirrolidina
2. (*R*)-3-[3-Metanosulfonil-1-(4-trifluorometilfenoxi)propil]pirrolidina
3. (*S*)-3-[3-Metanosulfonil-1-(4-trifluorometilfenoxi)propil]pirrolidina
4. (*S*)-3-[3-Metanosulfonil-1-(4-trifluorometilfenoxi)propil]pirrolidina
5. (*S*)-3-[3-(Propano-2-sulfonil)-1-(4-trifluorometilfenoxi)propil]pirrolidina.

Ensayo 1

Ensayo de unión a hSERT

Se usaron ensayos de unión de radioligando a las membranas para medir la inhibición de la unión del ligando marcado (^{3}H-citalopram) a membranas preparadas a partir de células que expresaban el transportador de la serotonina humana recombinante (hSERT) con el fin de determinar los valores de pK_i de compuestos de ensayo en los transportadores.

Preparación de las membranas de células que expresan hSERT

Se cultivaron líneas celulares derivadas de riñón embrionario humano recombinante (HEK-293) transfectadas establemente con hSERT en medio DMEM suplementado con FBS al 10 % dializado, 100 μg/ml de penicilina, 100 μg/ml de estreptomicina, L-glutamina 2 mM y 250 μg/ml de antibiótico aminoglucósido G418, en un incubador humidificado con CO_2 al 5 % a 37 ºC. Cuando los cultivos alcanzaron el 80 % de confluencia, las células se lavaron a fondo en PBS (sin Ca^{2+} ni Mg^{2+}), y levantaron con EDTA 5 mM en PBS. Se sedimentaron las células por centrifugación, se volvieron a suspender en tampón de lisis (Tris-HCl 10 mM, pH 7,5 que contenía EDTA 1 mM), se homogeneizaron, se sedimentaron por centrifugación y luego se volvieron a suspender en Tris-HCl 50 mM, pH 7,5 y sacarosa al 10 % a 4 ºC. La concentración de proteína de la suspensión de membrana se determinó usando un kit de ensayo de proteínas Bio-Rad Bradford. Las membranas se congelaron y se almacenaron a -80 ºC.

Ensayo de unión

Los ensayos de unión se realizaron en una placa de ensayo de 96 pocillos en un volumen total de 200 μl de tampón de ensayo (Tris-HCl 50 mM, NaCl 120 mM, KCl 5 mM, pH 7,4) con 0,5-1 μg de proteína de membrana. Se realizaron estudios de unión de saturación para determinar los valores de K_d del radioligando de ^{3}H-citalopram usando 12 concentraciones de radioligando diferentes que variaban de 0,005-10 nM. Se realizaron ensayos de inhibición para la determinación de los valores pK_i de los compuestos de ensayo con ^{3}H-citalopram a 11 concentraciones diferentes de compuesto de ensayo que variaron de 10 pM a 100 μM.

Se prepararon soluciones madre (10 mM en DMSO) del compuesto de ensayo y se realizaron diluciones en serie usando tampón de dilución (Tris-HCl 50 mM, NaCl 120 mM, KCl 5 mM, pH 7,4, BSA al 0,1 %, ácido ascórbico 400 μM). Se determinó la unión inespecífica del radioligando en presencia de duloxetina 1 μM (en tampón de dilución).

Tras una incubación de 60 minutos a 22 ºC (o un período suficiente para alcanzar el equilibrio), se recogieron las membranas por filtración rápida sobre una placa de 96 pocillos UniFilter GF/B, tratada previamente con polietilenimina al 0,3 %, y se lavaron 6 veces con 300 μl de tampón de lavado (Tris-HCl 50 mM, NaCl al 0,9 %). Se secaron las placas durante la noche a temperatura ambiente, se añadieron ~45 μl de MicroScint™-20 (Perkin Elmer) y se cuantificó la radiactividad unida mediante espectroscopia de centelleo líquido. Se analizaron las curvas de inhibición y las isotermas de saturación usando el paquete informático GraphPad Prism (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA). Se generaron los valores de CI_{50} a partir de curvas de respuesta a la concentración usando el algoritmo de dosis-respuesta sigmoidal (pendiente variable) de GraphPad Prism. Los valores de K_d y $B_{máx}$ para el radioligando se generaron a partir isotermas de saturación usando el algoritmo de unión de saturación Global Fit de Prism GraphPad. Los valores de pK_i (logaritmo decimal negativo de K_i) para los compuestos de ensayo se calcularon a partir de los valores de CI_{50} del mejor ajuste, y el valor de K_d del radioligando, usando la ecuación de Cheng-Prusoff (Cheng y Prusoff (1973), *Biochem. Pharmacol.* 22(23): 3099-3108): $K_i = CI_{50}/(1 + [L]/K_d)$, donde [L] = concentración de radioligando.

Se analizaron los compuestos de la invención en este ensayo, y se encontró que presentan valores de K_i para SERT $\geq$ 5,0.

Ensayo 2

Ensayo de captación de neurotransmisores de hSERT

Se usaron ensayos de captación de neurotransmisores para medir la inhibición de la captación de ^{3}H-serotonina (^{3}H-5-HT) en células que expresan hSERT con el fin de determinar los valores pCI_{50} de los compuestos de ensayo hacia el transportador, de manera similar a los procedimientos descritos en Tsuruda *et al.* (2010) "Journal of Pharmacological and Toxicological Methods" 61 (2):192-204.

Se cultivaron células HEK293 transfectadas de manera estable con SERT humano recombinante (HEK293-hSERT) en medio DMEM suplementado con suero bovino fetal al 10 % dializado, 100 μg/ml de penicilina, 100 μg/ml de estreptomicina, L-glutamina 2 mM y 250 μg/ml de antibiótico aminoglucósido G418. Las células se incubaron en un incubador humidificado con CO_2 al 5 % a 37 ºC
Se realizó el ensayo de captación de neurotransmisores en una placa de ensayo de 96 pocillos en un volumen total de 100 μl de tampón de ensayo que contenía células HEK293-hSERT (7.500-10.000 células/pocillo; siembra ~ 2 horas antes del ensayo de iniciación. Se empleó colorante de ensayo de absorción de transportadores de neurotransmisores (0,5 μM) y once concentraciones diferentes de compuesto que variaban de 10 pM y 100 μM. Se determinó la captación inespecífica en presencia de indatralina (2,5 μM). El tampón de ensayo final era Tris-HCl 12,5 mM, HEPES 5 mM, $NaHCO_3$ 3 mM, KH_2PO_4 0,3 mM, Na_2HPO_4 0,25 mM, NaCl 130 mM, KCl 5 mM, $CaCl_2$ 1 mM, $MgCl_2$ 0,4 mM, $MgSO_4$ 0,3 mM, D-glucosa 4 mM, BSA al 0,025 %, ácido ascórbico 0,1 mM, pH 7,4.

En estudios de preincubación, se añadió el compuesto de ensayo a las células durante 30 minutos a 37 ºC antes de la adición de sustrato fluorescente. Para la determinación de la potencia inhibidora, se determinó una acumulación de sustrato de punto final de 10-30 minutos mediante espectroscopia de fluorescencia usando un Safire (Tecan Group Ltd., Männendorf, Suiza), y se realizó un análisis como se describe en Tsuruda *et al., supra*. Para las mediciones en tiempo real, los compuestos bien se preincubaron (como se explica anteriormente) o se mezclaron con el sustrato antes de la adición, y se realizaron las mediciones cinéticas, las unidades de fluorescencia relativa (UFR integradas en 0,5 ms), usando un tiempo de ciclo de 1 min.

Se ha encontrado que los compuestos de la invención que se analizaron en este ensayo tienen los siguientes valores pCI_{50} de inhibición de la captación de la serotonina:

Ej.	pCI_{50} para SERT		Ej.	pCI_{50} para SERT
1	>8,0		2-22	>8,0
2-1	>8,0		2-23	>7,0
2-2	>8,0		2-24	>8,0
2-3	>8,0		2-25	>7,0
2-4	>7,0		2-26	>7,0

Ej.	pCI_{50} para SERT		Ej.	pCI_{50} para SERT
2-5	>7,0		2-27	>7,0
2-6	>7,0		2-28	>8,0
2-7	>7,0		3	>7,0
2-8	>7,0		4-1	>7,0
2-9	>7,0		4-2	>7,0
2-10	>7,0		4-3	>8,0
2-11	>8,0		5	>7,0
2-12	>8,0		6-1	>7,0
2-13	>8,0		6-2	>7,0
2-14	>8,0		6-3	>7,0
2-15	>8,0		6-4	>7,0
2-16	>8,0		7	>8,0
2-17	>8,0		8-1	>7,0
2-18	>8,0		8-2	>7,0
2-19	>7,0		8-3	>7,0
2-20	>7,0		8-4	>7,0
2-21	>8,0		8-5	>8,0

Ensayo 3

Ensayo de unión de radioligando a SERT ex vivo

Los ensayos de unión de radioligando *ex vivo* se usan para determinar la ocupación *in vivo* de SERT, en regiones del cerebro seleccionadas, después de la administración *in vivo* (aguda o crónica) de los compuestos de ensayo. Tras la administración del compuesto de ensayo (por vía intravenosa, intraperitoneal, oral, subcutánea u otra vía) a la dosis apropiada (0,0001 a 100 mg/kg), se sacrifican las ratas ($\geq$ n = 4 por grupo) en puntos temporales específicos (10 minutos a 48 horas) por decapitación, y se diseccionа el cerebro en hielo. Se diseccionan, congelan y almacenan a -80 ºC las regiones cerebrales relevantes hasta su uso.

Para el ensayo de unión de radioligando *ex vivo*, se monitoriza la velocidad inicial de asociación del radioligando selectivo de SERT (^{3}H-citalopram) con homogenizados en bruto de cerebro de rata, preparadas a partir de animales tratados con vehículo y compuesto de ensayo (véase Hess *et al.* (2004) *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 310(2): 488-497). Se preparan homogeneizados de tejido de cerebro en bruto mediante homogeneización de trozos de tejido congelado en 0,15 ml (por mg de peso húmedo) de tampón de Tris-HCl 50 mM, NaCl 120 mM, KCl 5 mM, pH 7,4. Se realizan ensayos de asociación de radioligando en una placa de ensayo de 96 pocillos en un volumen total de 200 µl de tampón de ensayo (Tris-HCl 50 mM, NaCl 120 mM, KCl 5 mM, BSA al 0,025 %, pH 7,4) con 650 µg de peso húmedo de tejido (equivalente a 25 µg de proteína). Se incuban los homogeneizados durante un máximo de 5 minutos con ^{3}H-citalopram (3 nM) antes de finalizar el ensayo mediante filtración rápida sobre una placa de 96 pocillos UniFilter GF/B, pretratada con polietilenimina al 0,3 %. A continuación, se lavan los filtros 6 veces con 300 µl de tampón de lavado (Tris-HCl 50 mM, NaCl al 0,9 %, pH 7,4 a 4 ºC). Se determina la unión inespecífica del radioligando en presencia de duloxetina 1 µM. Se secan las placas durante la noche a temperatura ambiente, se añaden ~45 µl de MicroScint™-20 (Perkin Elmer) y se cuantifica la radiactividad unida mediante espectroscopia de centelleo líquido. Se determina la velocidad inicial de asociación de ^{3}H-citalopram por regresión lineal usando el paquete informático GraphPad Prism (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA). Se determina la velocidad media de asociación del radioligando a homogeneizados de tejido cerebral de los animales tratados con vehículo. A continuación, se determina el % de ocupación de los compuestos de ensayo usando la siguiente ecuación:

% de ocupación = 100 x (1-(velocidad de asociación inicial para el tejido tratado con compuesto de ensayo/velocidad media de asociación para el tejido tratado con vehículo))

Se determinan los valores de DE_{50} representando el logaritmo en base 10 de la dosis del compuesto de ensayo frente al % de ocupación. Los valores de DE_{50} se generan a partir de curvas de respuesta a la concentración usando el algoritmo de dosis-respuesta sigmoidal (pendiente variable) en GraphPad Prism.

Ensayo 4

Selectividad periférica

Se administró un compuesto de ensayo por vía oral a ratas Sprague-Dawley macho alimentadas (n = 1/punto temporal). Se extrajeron sangre (a través de cardiocentesis), líquido cefalorraquídeo (LCR) (a través de de la cisterna magna) y el cerebro de un animal a las 0,5, 1, 2, 4, 8 y 24 horas de recibir la dosis. Se determinaron las concentraciones totales en plasma, LCR y cerebro por LC-MS/MS. Se evaluaron los parámetros farmacocinéticos mediante métodos no compartimentales usando WinNonlin (Versión 5.3, Pharsight, Mountain View, CA). Se determinó la fracción no unida en el plasma y el cerebro mediante diálisis de equilibrio. Se determinaron las concentraciones en plasma libre y en cerebro libre multiplicando la concentración total en plasma o en cerebro por su respectiva fracción no unida. Se supuso que el LCR no se había unido, debido a la ausencia de la proteína. Se evaluó la selectividad periférica mediante la comparación de las exposiciones no unidas ($C_{máx}$ y AUC) en plasma libre frente al LCR y/o al cerebro libre.

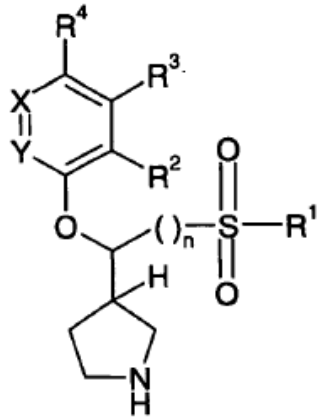
En este ensayo, se evaluaron los siguientes compuestos de ensayo:

Ej.	AUC en plasma libre/AUC en cerebro libre
1	>70
2-7	>20
2-8	>10
3	>20

Los compuestos de ensayo se consideran periféricamente selectivos si presentan una proporción de la concentración en plama libre:concentración en cerebro libre (medida por el AUC) superior a 10.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula I:



(I)

X e Y son -CH-, o X es -CH- e Y es -N-, o X es -N- e Y es -CH-;
R^1 se selecciona entre -alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con 1 a 5 grupos seleccionados entre halo, $-NHC(O)CH_3$ y $-C(O)NHCH_3$; -cicloalquilo C_{3-6}; -alquilen C_{1-2}-OR; -alquilen C_{1-2}-COOR; -alquilen C_{0-3}-fenilo opcionalmente sustituido con $-NHC(O)CH_3$ o $-C(O)NHCH_3$; y -alquilen C_{0-3}-piridilo; donde R se selecciona entre hidrógeno y -alquilo C_{1-3};
R^2 se selecciona entre hidrógeno, -alquilo C_{1-6} y -O-alquilo C_{1-6};
R^3 se selecciona entre hidrógeno, halo y ciano;
R^4 se selecciona entre halo; -alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con 1 a 5 átomos de flúor; -O-alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con 1 a 5 átomos de flúor; -alquilen C_{0-1}-fenilo; -O-alquilen C_{0-3}-fenilo; $-SO_2$-alquilo C_{1-6}; $-C(O)NH_2$; y $-NO_2$; y
n es 1 o 2; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

2. El compuesto de la reivindicación 1, donde R^1 se selecciona entre metilo, etilo, isopropilo, $-(CH_2)_2NHC(O)CH_3$, $-(CH_2)_2OH$, $-(CH_2)C(O)OCH_3$, fenilo, 4-fenilacetamida y 4-piridilo, preferentemente metilo.

3. El compuesto según lo reivindicado bien en la reivindicación 1 o reivindicación 2, donde R^2 es hidrógeno.

4. El compuesto según lo reivindicado en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde R^3 se selecciona entre hidrógeno y ciano, preferentemente hidrógeno.

5. El compuesto según lo reivindicado en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, donde R^4 se selecciona entre halo, -alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con 1 a 5 átomos de flúor, -O-alquilo C_{1-6}- opcionalmente sustituido con 1 a 5 átomos de flúor y $-NO_2$, preferentemente $-CF_3$.

6. El compuesto según lo reivindicado en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, donde n es 1.

7. El compuesto según lo reivindicado en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, donde X e Y son -CH-.

8. El compuesto de la reivindicación 7, donde R^1 se selecciona entre -alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con $-NHC(O)CH_3$; -alquilen C_{1-2}-OR; -alquilen C_{1-2}-COOR; fenilo opcionalmente sustituido con $-NHC(O)CH_3$; y -piridilo; donde R se selecciona entre hidrógeno y -alquilo C_{1-3}; R^2 se selecciona entre hidrógeno, -alquilo C_{1-6} y -O-alquilo C_{1-6}; R^3 se selecciona entre hidrógeno y ciano; y R^4 se selecciona entre halo; -alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con 1 a 5 átomos de flúor; -O-alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con 1 a 5 átomos de flúor; y $-NO_2$.

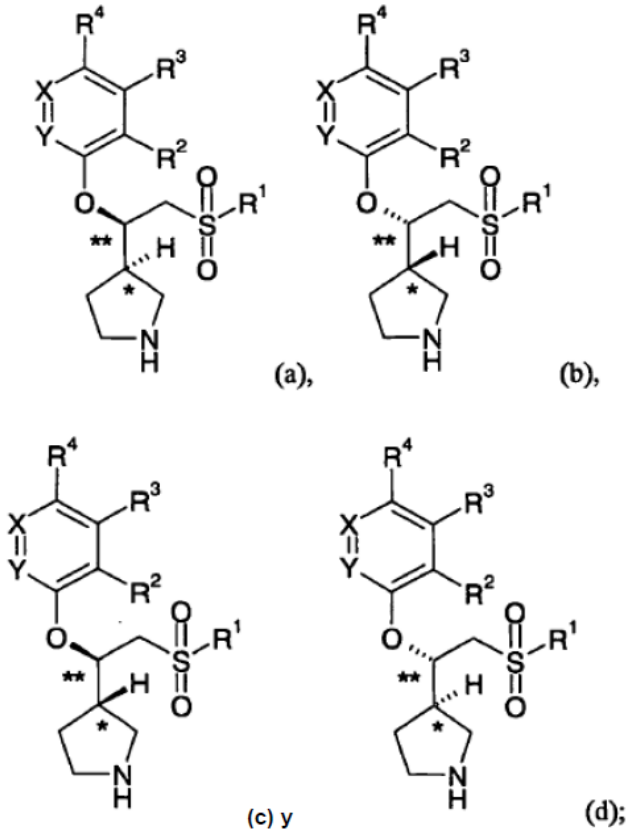
9. El compuesto según lo reivindicado en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, donde X es -CH- e Y es -N-.

10. El compuesto de la reivindicación 9, donde R^1 es -alquilo C_{1-6}; R^2 es hidrógeno; R^3 es hidrógeno; R^4 se selecciona entre halo y -alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con 1 a 5 átomos de flúor; y n es 1.

11. El compuesto según lo reivindicado en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, donde X es -N- e Y es -CH-.

12. El compuesto de la reivindicación 11, donde R^1 es -alquilo C_{1-6}; R^2 es hidrógeno; R^3 es hidrógeno; R^4 se selecciona entre halo y -alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con 1 a 5 átomos de flúor; y n es 1.

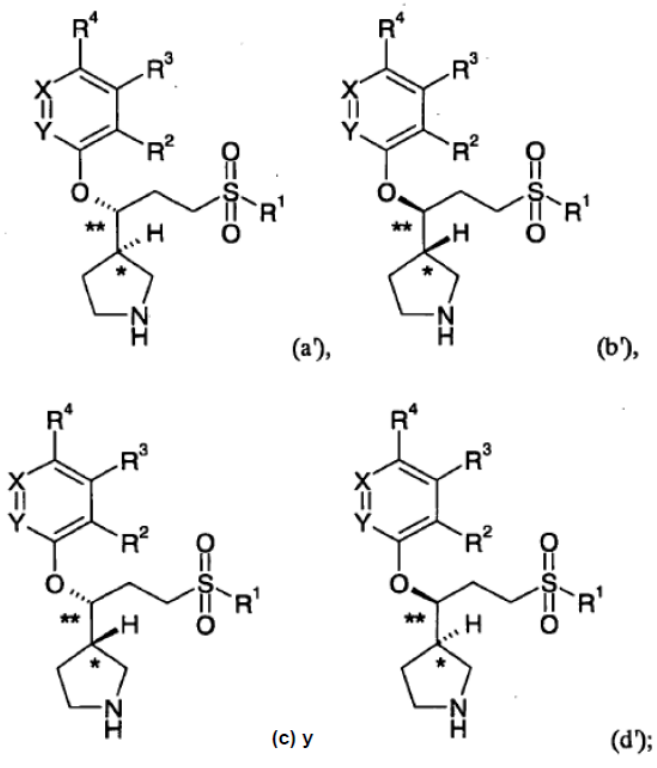
13. El compuesto de la reivindicación 1, que tiene una configuración seleccionada entre:



(a), (b), (c) y (d);

o está enriquecido en una forma estereoisomérica que tiene dicha configuración.

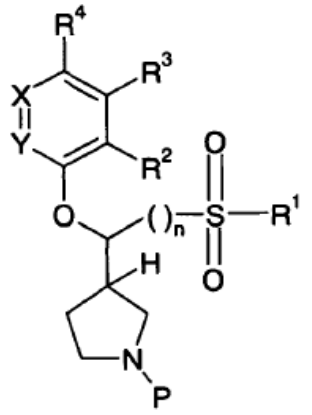
14. El compuesto de la reivindicación 1, que tiene una configuración seleccionada entre:



(a'), (b'), (c) y (d');

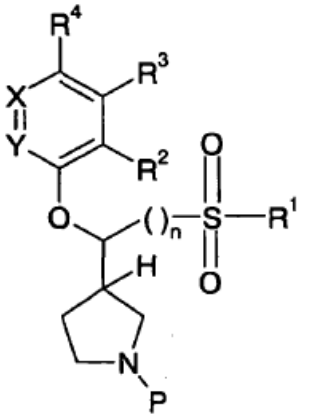
o está enriquecido en una forma estereoisomérica que tiene dicha configuración.

15. Un producto intermedio útil en la síntesis del compuesto según lo reivindicado en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, que tiene la fórmula:



donde P representa un grupo protector de amino seleccionado entre *t*-butoxicarbonilo, tritilo, benciloxicarbonilo, 9-fluorenilmetoxicarbonilo, formilo y bencilo.

16. Un método de preparación del compuesto según lo reivindicado en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, proceso que comprende desproteger un compuesto de fórmula:



para proporcionar un compuesto de fórmula I, o una sal del mismo, donde P es un grupo protector de amino.

17. Una composición farmacéutica que comprende el compuesto según lo reivindicado en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14 y un vehículo farmacéuticamente aceptable, y que, opcionalmente, comprende además un segundo agente terapéutico seleccionado entre bloqueadores de los canales del calcio, antagonistas del receptor de la endotelina, inhibidores de PDE-5, análogos de prostaciclina, prostanoides y combinaciones de los mismos.

18. Un compuesto según lo reivindicado en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14 para su uso en terapia.

19. Un compuesto según lo reivindicado en la reivindicación 18 para su uso en el tratamiento de una enfermedad seleccionada entre hipertensión arterial pulmonar, trastornos gastrointestinales, cáncer, artritis reumatoide, osteoartritis, osteoporosis y diabetes.

20. Un compuesto según lo reivindicado en la reivindicación 18 para su uso en tratamiento antiplaquetario.