

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 537 801**

51 Int. Cl.:

**C07D 401/06** (2006.01)

**A61K 31/496** (2006.01)

**A61P 15/06** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.06.2005 E 05755563 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.03.2015 EP 1758886**

54 Título: **Piperazinodionas como antagonistas del receptor de la oxitocina**

30 Prioridad:

**23.06.2004 GB 0414093**

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

**12.06.2015**

73 Titular/es:

**GLAXO GROUP LIMITED (100.0%)  
980 Great West Road  
Brentford, Middlesex TW8 9GS, GB**

72 Inventor/es:

**BORTHWICK, ALAN, DAVID;  
HICKEY, DEIRDRE, MARY, BERNADETTE;  
LIDDLE, JOHN y  
MASON, ANDREW, MCMURTRIE**

74 Agente/Representante:

**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

**Observaciones :**

**Véase nota informativa (Remarks) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes**

**ES 2 537 801 T3**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCION

Piperazinodionas como antagonistas del receptor de la oxitocina

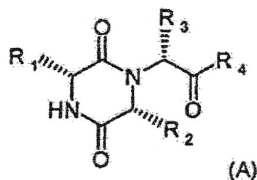
5 La presente invención se refiere a un nuevo derivado de dicetopiperazina que tiene una potente y selectiva acción antagonista al receptor de la oxitocina, a procedimientos para su preparación, composiciones farmacéuticas que lo contienen y a su uso en medicina.

La hormona oxitocina es un potente contractor del útero y se usa para la inducción o provocación del parto. Igualmente, la densidad de los receptores de la oxitocina uterinos se incrementan significativamente por >100 veces durante el embarazo y picos en el parto (prematuros y a término).

10 Los nacimientos/partos prematuros (entre 24 y 37 semanas) causan aproximadamente un 60% de mortalidad/morbilidad de los lactantes y, en consecuencia, un compuesto que inhiba las acciones uterinas de la oxitocina, por ejemplo, antagonistas de la oxitocina, sería útil para la prevención o control del parto prematuro.

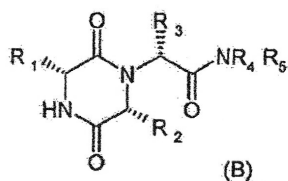
La Solicitud de Patente Internacional WO 99/47549 describe derivados de dicetopiperazina que incluyen derivados de 3-bencil-, 5-dicetopiperazina como inhibidores de 1,6-bisfosfato de fructosa (FBPasa).

15 La Solicitud de Patente Internacional WO 03/053443 describe una clase de derivados de dicetopiperazina que muestran un nivel particularmente útil de actividad como antagonistas selectivos al receptor de la oxitocina. Una clase preferida de compuestos descritos en ella es la representada por la fórmula (A)



20 Dichos compuestos incluyen aquellos en los que, entre otros, R<sub>1</sub> es 2-indanilo, R<sub>2</sub> es alquilo de C<sub>3-4</sub>, R<sub>3</sub> es un grupo heteroarilo de 5 ó 6 átomos ligado al resto de la molécula mediante un átomo de carbono en el anillo, R<sub>4</sub> representa el grupo NR<sub>5</sub>R<sub>6</sub> en el que R<sub>5</sub> y R<sub>6</sub> representan cada uno alquilo, por ejemplo, metilo, o R<sub>5</sub> y R<sub>6</sub> conjuntamente con el átomo de nitrógeno al cual están unidos forman un anillo heterocíclico saturado de 3 a 7 átomos, cuyo heterociclo puede contener un heteroátomo adicional seleccionado entre oxígeno.

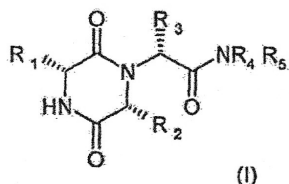
La Solicitud de Patente Internacional WO 2005/000840 describe derivados de dicetopiperazina de fórmula (B)



25 en la que R<sub>1</sub> es 2-indanilo, R<sub>2</sub> es 1-metilpropilo, R<sub>3</sub> es 2-metil-1,3-oxazol-4-ilo y R<sub>4</sub> y R<sub>5</sub> conjuntamente con el átomo de nitrógeno al cual están unidos representan morfolino.

Los inventores presentes han encontrado ahora un nuevo grupo de antagonistas selectivos del receptor de la oxitocina que muestran un perfil farmacocinético particularmente ventajoso.

De acuerdo con ello, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula (I)



30 en la que R<sub>1</sub> es 2-indanilo, R<sub>2</sub> es 1-metilpropilo, R<sub>3</sub> es 2,6-dimetil-3-piridilo, R<sub>4</sub> y R<sub>5</sub> conjuntamente con el átomo de nitrógeno al cual están unidos representan morfolino, o una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable del mismo, en el cual el ácido está seleccionado entre: ácido clorhídrico, bromhídrico, nítrico, fosfórico, sulfúrico, meta-

nosulfónico, etanosulfónico, bencenosulfónico, p-toluenosulfónico, cítrico, tartárico, láctico, pirúvico, acético, succínico, fumárico y maléico.

5 Es de señalar que el compuesto de fórmula (I) posee la estereoquímica absoluta representada en los átomos de carbono asimétricos que portan grupos  $R_1$ ,  $R_2$  y  $R_3$ , es decir, la estereoquímica en dichas posiciones es siempre (*R*). No obstante, es de señalar igualmente que aunque dichos compuestos están substancialmente libres del (*S*)-epímero en cada  $R_1$ ,  $R_2$  y  $R_3$ , cada epímero puede estar presente en pequeñas cantidades, por ejemplo, puede estar presente en 1% o menos del (*S*)-epímero.

Es de señalar igualmente que el grupo  $R_2$  contiene un átomo de carbono asimétrico y que la invención incluye tanto los (*R*)- como los (*S*)-epímeros de los mismos.

10 En una realización de la invención,  $R_2$  es (1*S*)-1-metilpropilo. En otra realización de la invención,  $R_2$  es (1*R*)-1-metilpropilo.

Una realización adicional de la invención es el compuesto cuya preparación se describe específicamente en el Ejemplo 3.

15 En un aspecto, el compuesto de fórmula (I) es (3*R*,6*R*)-3-(2,3-dihidro-1*H*-inden-2-il)-1-((1*R*)-1-(2,6-dimetil-3-piridinil)-2-(4-morfolinil)-2-oxoetil)-6-((1*S*)-metilpropil)-2,6-piperazinodiona o una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable del mismo, en el cual el ácido está seleccionado entre: ácido clorhídrico, bromhídrico, nítrico, fosfórico, sulfúrico, metanosulfónico, etanosulfónico, bencenosulfónico, p-toluenosulfónico, cítrico, tartárico, láctico, pirúvico, acético, succínico, fumárico y maléico.

20 Igualmente, se divulgan solvatos de los compuestos de fórmula (I), por ejemplo hidratos, o solvatos con disolventes farmacéuticamente aceptables incluyendo, pero sin limitarse a ellos, alcoholes, por ejemplo etanol, iso-propanol, acetona, éteres, ésteres, por ejemplo acetato de etilo.

El compuesto de la invención puede igualmente usarse en combinación con otros agentes terapéuticos. Se proporciona una combinación que comprende un compuesto de la invención o un derivado farmacéuticamente aceptable del mismo, conjuntamente con un agente terapéutico adicional.

25 Cuando un compuesto de la invención o un derivado farmacéuticamente aceptable del mismo se usa en combinación con un segundo agente terapéutico activo contra el mismo estado de enfermedad, la dosis de cada compuesto puede diferir de la que se usa cuando el compuesto está solo. Las dosis apropiadas serán fácilmente determinadas por los expertos en la técnica. Es de señalar que la cantidad de un compuesto de la invención requerida para uso en el tratamiento variará con la naturaleza del estado a tratar y la edad y condición del paciente y en último lugar será a la discreción del médico o veterinario que le atienda. El compuesto de la presente invención puede usarse en combinación con medicinas tocolíticas o profilácticas. Estas incluyen, pero sin limitarse a ellas, beta-agonistas tal como terbutalina o ritodrina, bloqueadores del canal de calcio, por ejemplo nifedepina, fármacos anti-inflamatorios no esteroideos, tal como indometacina, sales de magnesio, tal como sulfato magnésico, otros antagonistas de la oxitocina, tal como atosiban, y agonistas de la progesterona y formulaciones. Además, el compuesto de la presente invención puede usarse en combinación con esteroides antenatales incluyendo betametasona y dexametasona, vitaminas prenatales especialmente suplementos folatos, antibióticos, incluyendo pero sin limitarse a ellos ampicilina, amoxicilina/clavulanato, metronidazol, clindamicina, y ansiolíticos.

40 Las combinaciones anteriormente referidas pueden presentarse de manera conveniente para uso en la forma de una formulación farmacéutica y, en consecuencia, se divulgan formulaciones farmacéuticas que comprenden una combinación tal como se ha definido anteriormente conjuntamente con un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable. Los componentes individuales de dichas combinaciones pueden administrarse o bien secuencialmente o bien simultáneamente en formulaciones farmacéuticas separadas o combinadas, mediante cualquier vía conveniente.

45 Cuando la administración es secuencial, tanto el compuesto de la invención como el segundo agente terapéutico puede administrarse en primer lugar. Cuando la administración es simultánea, la combinación puede administrarse o bien en la misma composición o bien en una composición farmacéutica diferente.

Cuando se combinan en la misma formulación, se da por entendido que los dos compuestos deben ser estables y compatibles entre sí y los otros componentes de la formulación. Cuando se formulan por separado, pueden suministrarse mediante cualquier formulación conveniente, de manera conveniente tal como se conocen para dichos compuestos en la técnica.

50 El compuesto de fórmula (I) tiene una alta afinidad por los receptores de la oxitocina sobre el útero de ratas y humanos y esta puede determinarse usando procedimientos convencionales. Por ejemplo, la afinidad por los receptores de la oxitocina sobre los úteros de ratas puede determinarse mediante el procedimiento de Pettibone y otros, Drug Development Research, vol. 30, págs. 129-142, (1993). Los compuestos de la invención muestran igualmente alta afinidad al receptor de la oxitocina recombinante humana en células CHO y esta puede demostrarse de manera conveniente usando el procedimiento descrito por Wyatt y otros, Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, vol. 11, págs 1301-1305, (2001).

El compuesto de la invención muestra un perfil farmacocinético ventajoso incluyendo buena biodisponibilidad asociada con buena solubilidad acuosa. En un aspecto, el compuesto de la invención muestra buena potencia y bajo aclaramiento intrínseco. En otro aspecto, el compuesto de la invención muestra bajo aclaramiento intrínseco.

5 El compuesto de la invención es, en consecuencia, útil en el tratamiento o prevención de enfermedades y/o estados mediados mediante la acción de la oxitocina. Los ejemplos de dichas enfermedades y/o estados incluyen parto prematuro, dismenorrea, endometriosis e hiperplasia prostática benigna.

10 El compuesto puede ser igualmente útil para retrasar el parto antes de la cesárea electiva o la transferencia del paciente a un centro de atención terciaria, tratamiento de disfunción sexual (masculina y femenina), eyaculación particularmente precoz, obesidad, trastornos de la alimentación, insuficiencia cardíaca congestiva, hipertensión arterial, cirrosis hepática, hipertensión nefrítica u ocular, trastorno obsesivo-compulsivo y trastornos neuropsiquiátricos. El compuesto de la invención puede igualmente ser útil para mejorar los índices de fertilidad en animales, por ejemplo, animales de granja.

15 En consecuencia, la invención proporciona un compuesto de fórmula (I) o una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable tal como se ha descrito anteriormente, para uso en terapia, particularmente para uso en terapia humana y veterinaria, y en particular para uso como medicina para antagonizar los efectos de la oxitocina sobre el receptor de la oxitocina.

La invención proporciona igualmente el uso de un compuesto de fórmula (I) o una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable tal como se ha descrito anteriormente, para la fabricación de un medicamento para antagonizar los efectos de la oxitocina sobre el receptor de la oxitocina.

20 Igualmente, se proporciona un procedimiento para antagonizar los efectos de la oxitocina sobre el receptor de la oxitocina, que comprende la administración a un paciente que lo necesite de una cantidad antagonística de al menos una entidad química seleccionada entre un compuesto de fórmula (I) y/o derivados farmacéuticamente aceptables del mismo.

25 Se apreciará por los expertos en la técnica que la referencia en la presente invención a tratamiento se extiende a la profilaxis así como al tratamiento de enfermedades o síntomas establecidos.

Es de señalar además que la cantidad de un compuesto de la invención requerida para uso en tratamiento variará con la naturaleza del estado a tratar, la vía de administración y la edad y el estado del paciente y finalmente estará a la discreción del médico que lo atiende. No obstante, en general, las dosis usadas para tratamiento de un humano adulto estarán típicamente dentro del intervalo de 2 a 1000 mg por día, dependiendo de la vía de administración.

30 Así, para la administración parental, una dosis diaria estará típicamente dentro del intervalo de 2 a 50 mg, preferiblemente 5 a 25 mg por día. Para administración oral, una dosis diaria estará típicamente dentro del intervalo de 10 a 1000 mg, por ejemplo 50 a 500 mg por día.

La dosis deseada puede presentarse de manera conveniente en una dosis única o como dosis divididas administradas a intervalos apropiados, por ejemplo como dos, tres, cuatro o más sub-dosis por día.

35 Aunque es posible que, para uso en terapia, un compuesto de la invención pueda administrarse como el compuesto químico puro, es preferible presentar el ingrediente activo como una formulación farmacéutica.

40 De acuerdo con ello, la invención proporciona además una formulación farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable tal como se ha descrito anteriormente, conjuntamente con uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables de los mismos y, opcionalmente, otros ingredientes terapéuticos y/o profilácticos. El vehículo(s) debe ser "aceptable" en el sentido de ser compatible con los otros ingredientes de la formulación y no perjudicial para el receptor del mismo.

La composiciones de la invención incluyen las especialmente formuladas en una forma para administración oral, bucal, parenteral, inhalación o insuflación, implante, vaginal o rectal.

45 Los comprimidos y cápsulas para administración oral pueden contener excipientes convencionales tales como agentes aglomerantes, por ejemplo, jarabe, goma arábiga, gelatina, sorbitol, tragacanto, mucílago de almidón o polivinilpirrolidona; cargas, por ejemplo, lactosa, azúcar, celulosa microcristalina, almidón de maíz, fosfato cálcico o sorbitol; lubricantes, por ejemplo, estearato magnésico, ácido esteárico, talco, polietilenglicol o sílice; desintegrantes, por ejemplo, almidón de patata o glicolato de almidón sódico, o agentes humectantes tal como lauril sulfato sódico. Los comprimidos pueden estar recubiertos de acuerdo con procedimientos bien conocidos en la técnica. Las preparaciones líquidas orales pueden presentarse en la forma de, por ejemplo, suspensiones acuosas o aceitosas, soluciones, emulsiones, jarabes o elixires, o pueden presentarse como un producto seco para constitución con agua u otro vehículo adecuado antes de su uso. Dichas preparaciones líquidas pueden contener aditivos convencionales tales como agentes de suspensión, por ejemplo, jarabe de sorbitol, metil celulosa, jarabe de glucosa/azúcar, gelatina, hidroxietil celulosa, carboximetil celulosa, gel de estearato de aluminio o grasas comestibles hidrogenadas; agentes emulsificantes, por ejemplo, lecitina, monooleato de sorbitano o goma arábiga, vehículos no acuosos (los cuales pueden

incluir aceites comestibles), por ejemplo, aceite de almendra, aceite de coco fraccionado, ésteres aceitosos, propileno glicol o alcohol etílico; solubilizantes tales como tensioactivos, por ejemplo polisorbatos u otros agentes tales como ciclodextrinas; y conservantes, por ejemplo, p-hidroxibenzoatos de metilo o propilo o ácido ascórbico. Las composiciones pueden igualmente formularse como supositorios, por ejemplo, conteniendo bases de supositorios convencionales tal como manteca de cacao u otros glicéridos.

Para administración bucal, la composición puede adoptar la forma de comprimidos o pastillas formuladas de la manera convencional.

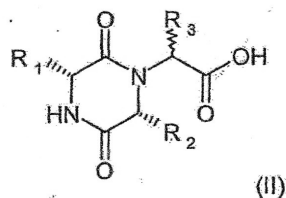
La composición de acuerdo con la invención puede formularse para administración parenteral mediante inyección o infusión continua. Las formulaciones para inyección pueden presentarse en forma de dosis unitaria en ampollas, o en envases multi-dosis con un conservante agregado. Las composiciones pueden adoptar formas tales como suspensiones, soluciones, o emulsiones en vehículos aceitosos o acuosos, y pueden contener agentes de formulación tales como agentes de suspensión, estabilización y/o dispersión. Como alternativa, el ingrediente activo puede estar en la forma de polvo para constitución con un vehículo adecuado, por ejemplo, agua libre de pirógenos, estéril, antes de su uso.

Las composiciones de acuerdo con la invención pueden contener entre 0,1-99% del ingrediente activo, de manera conveniente desde 1-50% para comprimidos y cápsulas y 3-50% para preparaciones líquidas.

El perfil farmacocinético ventajoso de los compuestos de la invención se demuestra fácilmente usando procedimientos convencionales para la medición de las propiedades farmacocinéticas de compuestos biológicamente activos.

Los compuestos de la invención y los derivados farmacéuticamente aceptables de los mismos pueden prepararse mediante los procedimientos descritos en la presente invención más adelante, constituyendo dichos procedimientos un aspecto adicional de la invención. En la siguiente descripción, los grupos son tal como se han definido anteriormente para los compuestos de la invención, salvo que se establezca lo contrario.

Los compuestos de fórmula (I) pueden prepararse mediante la reacción del ácido carboxílico (II), en el que  $R_1$ ,  $R_2$  y  $R_3$  tienen los significados definidos en la fórmula (I), y la quiralidad en  $R_3$  es o bien R o bien S, o una mezcla de los mismos,



o un derivado activado del mismo con la amina  $\text{HNR}_4\text{R}_5$ , en la que  $R_4$  y  $R_5$  tienen los significados definidos en la fórmula (I), bajo condiciones convencionales para la preparación de amidas, a partir de un ácido carboxílico o un derivado activado del mismo y una amina.

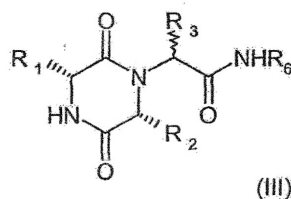
Es de señalar que la mezcla de diastereómeros de compuestos de la fórmula (I) obtenidos partir de la reacción anterior puede separarse usando técnicas de resolución convencionales bien conocidas en la técnica, por ejemplo cromatografía de columna.

De acuerdo con ello, la amida de fórmula (I) puede prepararse tratando el ácido carboxílico de fórmula (II) con un agente de activación tal como BOP (hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxi-tris(dimetilamino)fosfonio), TBTU (tetrafluoroborato de 2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio), BOP-Cl (cloruro bis(2-oxo-3-oxazolidinilo)fosfínico), cloruro de oxalilo o 1,1'-carbonildiimidazol en un disolvente aprótico tal como diclorometano, opcionalmente en la presencia de una amina terciaria tal como trietilamina, y posterior reacción del producto así formado, es decir, el derivado activado del compuesto de fórmula (II), con la amina  $\text{HNR}_4\text{R}_5$ .

Como alternativa, la amida de fórmula (I) puede prepararse mediante la reacción de un anhídrido mezclado obtenido del ácido carboxílico (II), en el que  $R_1$ ,  $R_2$  y  $R_3$  tienen los significados definidos en la fórmula (I) con la amina  $\text{HNR}_4\text{R}_5$  en un disolvente aprótico tal como tetrahidrofurano. De manera conveniente, la reacción se lleva a cabo a bajas temperaturas, por ejemplo 25°C a -90°C, de manera conveniente a aproximadamente -78°C.

El anhídrido mezclado se prepara de manera conveniente mediante la reacción del ácido carboxílico (II) con un cloruro de ácido adecuado, por ejemplo cloruro de pivaloilo, en un disolvente aprótico tal como acetato de etilo en la presencia de una base orgánica terciaria tal como una trialquilamina, por ejemplo trietilamina, y a bajas temperaturas, por ejemplo 25°C a -90°C, de manera conveniente a aproximadamente -78°C.

Los compuestos de fórmula (I) pueden prepararse igualmente mediante la reacción de un compuesto de fórmula (III)

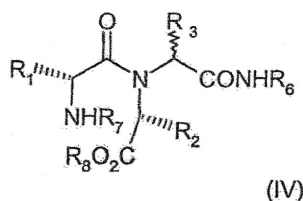


en la que R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> tienen los significados definidos en la fórmula (I) y R<sub>6</sub> es 2-hidroxifenilo, con 1,1'-carbonildiimidazol o 1,1'-tiocarbonildiimidazol en un disolvente adecuado, tal como diclorometano, y posterior reacción de los productos así formados con la amina NR<sub>4</sub>R<sub>5</sub>.

- 5 Los compuestos de fórmula (II) pueden prepararse a partir de un compuesto de fórmula (III), en la que R<sub>6</sub> es 2-hidroxifenilo mediante reacción con 1,1'-carbonildiimidazol o 1,1'-tiocarbonildiimidazol en un disolvente adecuado, tal como diclorometano, y posterior reacción del producto así formado con acetona acuosa.

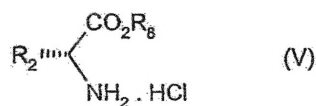
10 Los compuestos de fórmula (III), en la que R<sub>6</sub> es 2-hidroxifenilo pueden prepararse a partir de los compuestos correspondientes de fórmula (III), en la que R<sub>6</sub> es un grupo 2-benciloxifenilo mediante hidrogenolisis usando hidrógeno y un catalizador de paladio.

Como alternativa, pueden prepararse compuestos de fórmula (III) en la que R<sub>6</sub> es 2-hidroxifenilo, a partir del compuesto de fórmula (IV)

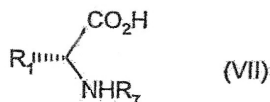


- 15 en la que R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> tienen los significados definidos en la fórmula (I), R<sub>6</sub> es 2-benciloxifenilo, R<sub>7</sub> es benciloxicarbonilo y R<sub>8</sub> es alquilo de C<sub>1-6</sub>, mediante la reacción con hidrógeno, en la presencia de un catalizador de paladio sobre carbón vegetal y ácido acético. Esta reacción se lleva a cabo de manera conveniente en un disolvente tal como etanol, trifluoroetanol o mezclas de los mismos.

Los compuestos de fórmula (IV) pueden prepararse mediante la reacción del hidrocloreto del amino éster (V)



- 20 en el que R<sub>1</sub> tiene el significado definido en la fórmula (I) y R<sub>8</sub> es alquilo de C<sub>1-6</sub>, con un aldehído R<sub>3</sub>CHO (VI) en el que R<sub>3</sub> tiene el significado definido en la fórmula (I), en la presencia de trietilamina y en un disolvente tal como trifluoroetanol y, a continuación, reacción del producto resultante con un compuesto de fórmula (VII)



- 25 en la que R<sub>1</sub> tiene el significado definido en la fórmula (I) y R<sub>7</sub> es t-butiloxicarbonilo o benciloxicarbonilo y el isocianuro CNR<sub>6</sub> (VIII), en el que R<sub>6</sub> es un grupo 2-benciloxifenilo, en un disolvente tal como trifluoroetanol.

Los compuestos de fórmula (III) en la que R<sub>6</sub> es 2-benciloxifenilo, pueden prepararse a partir de un compuesto de fórmula (IV) en la que R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> tienen los significados definidos en la fórmula (I), R<sub>6</sub> es 2-benciloxifenilo y R<sub>7</sub> es t-butiloxicarbonilo, mediante la reacción con cloruro de hidrógeno en dioxano, seguido de con trietilamina en un disolvente tal como diclorometano.

- 30 El compuesto de fórmula (IV) en la que R<sub>7</sub> es t-butiloxicarbonilo, puede prepararse mediante la vía descrita anteriormente usando un compuesto de fórmula (VII) en la que R<sub>7</sub> es t-butiloxicarbonilo.

El sustituyente  $R_2$  es un grupo 1-metilpropilo y el compuesto de fórmula (I) en la que  $R_2$  es un grupo 1-metilpropilo, que tiene una configuración (S) o (R), puede prepararse a partir del hidrocloreto del amino éster (V) en el que el grupo  $R_2$  tiene la configuración requerida (S) o (R).

- 5 El hidrocloreto del amino éster (V), en el que  $R_1$  tiene el significado definido en la fórmula (I) y  $R_6$  es alquilo de  $C_{1-6}$ , puede prepararse a partir de los correspondientes aminoácidos comercialmente disponibles, D-aloisoleucina o D-isoleucina, mediante el procedimiento de Schmidt, U; Kroner, M; Griesser, H, *Synthesis*, vol. 11, págs. 832-5, (1989).

Los aldehídos  $R_3CHO$  (VI), en los que  $R_3$  tiene el significado definido en la fórmula (I), están o bien comercialmente disponibles, o bien pueden prepararse mediante procedimientos de la literatura (Comins, Daniel L; Weglarz, Michael A, *J. Org. Chem.*, vol. 53, (nº 19), págs. 4437-4442, (1988).

- 10 El derivado aminoácido (VII), en el que  $R_1$  tiene el significado definido en la fórmula (I) y  $R_7$  es t-butoxicarbonilo, se encuentra comercialmente disponible; el derivado aminoácido (VII), en el que  $R_1$  tiene el significado definido en la fórmula (I) y  $R_7$  es benciloxicarbonilo, puede prepararse a partir del correspondiente aminoácido comercialmente disponible (R)- $R_1CH(NH_2)CO_2H$  (IX), en el que  $R_1$  tiene el significado definido en la fórmula (I), mediante tratamiento con N-(benciloxicarbonilo)succinimida y trietilamina en un disolvente tal como dioxano en agua.
- 15 El isocianuro  $CNR_6$  (VIII) puede prepararse de acuerdo con procedimientos de la literatura (Obrecht, Roland; Hermann Rudolf; Ugi, Ivar, *Synthesis*, vol. 4, págs. 400-402, (1985).

Las sales de adición de ácido del compuesto de fórmula (I) pueden prepararse por medios convencionales, por ejemplo, mediante tratamiento de una solución del compuesto en un disolvente adecuado tal como diclorometano o acetona, con una solución adecuada del ácido orgánico o inorgánico apropiado.

- 20 Los ejemplos siguientes son ilustrativos, pero no limitativos, de las realizaciones de la presente invención.

### Parte experimental

#### Nomenclatura

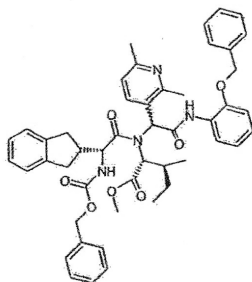
Todos los compuestos intermedios y ejemplos se han denominado usando el ACD Name Pro 6.02 in ISISDraw.

#### Abreviaturas

- 25 CV: Volumen de columna. Un volumen de columna se define como el volumen ocupado por el sorbente en la columna empaquetada. Este puede calcularse de manera aproximada a partir de la masa y la densidad del sorbente particular usado (1CV = masa dividida por densidad).

#### Purificación general y procedimientos analíticos

- 30 La HPLC analítica se llevó a cabo sobre una columna Supelcosil LCABZ+PLUS (3,3 cm x 4,6 mm DI.), eluyendo con  $HCO_2H$  al 0,1% y acetato de amonio 0,01 M en agua (disolvente A), y  $HCO_2H$  al 0,05% y 5% de agua en acetonitrilo (disolvente B), usando o bien el gradiente de elución 1,0-0,7 minutos 0% de B, 0,7-4,2 minutos 0%-100% de B, 4,2-5,3 minutos 100% de B, 5,3-5,5 minutos 0% de B, o bien el gradiente de elución 2 0-0,7 minutos 0% de B, 0,7-4,2 minutos 0%-100% de B, 4,2-4,6 minutos 100% de B, 4,6-4,8 minutos 0% de B, a una velocidad de flujo de 3 ml/min. Los tiempos de retención ( $R_t$ ) se anotaron en minutos. Los espectros de masa (MS) se registraron sobre un espectrómetro de masas Waters ZQ2000 usando modos de electropulverización positiva [ES+ve para obtener iones moleculares  $MH^+$  y  $M(NH_4)^+$ ] o modos de electropulverización negativa [ES-ve para obtener iones moleculares  $(M-H)^-$ ]. Los espectros  $RMN^{-1}H$  se registraron usando un espectrómetro Bruker DPX 400MHz usando tetrametilsilano como patrón interno.
- 40 La purificación usando cartuchos de sílice se refiere a cromatografía llevada a cabo usando un Combiflash® Companion™ usando cartuchos Redisep® suministrados por Presearch. Los fritados hidrófobos referidos a tubos de filtración comercializados por Whatmann. SPE (extracción en fase sólida) se refiere al uso de cartuchos comercializados por International Sorbent Technology Ltd. La TLC (cromatografía de capa fina) se refiere al uso de placas de TLC comercializadas por Merck recubiertas con gel de sílice 60 F<sub>254</sub>

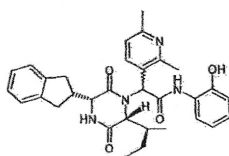
**Compuesto intermedio 1**

N-[(2*R*)-2-(2,3-dihidro-1*H*-inden-2-il)-2-((fenilmetil)oxi]carbonil]-amino)acetil]-N-[1-(2,6-dimetil-3-piridinil)-2-oxo-2-((2-[(fenilmetil)oxi]fenil)amino)etil]-D-aloisoleucinato de metilo

5 Se trataron 2,6-dimetilpiridino-3-carboxaldehído (Aurora Feinchemie GmbH) (2,00 g, 16,1 mmol) e hidrocloreto de éster metílico de (D)-aloisoleucina (2,93 g, 16,1 mmol) en metanol (50 ml) y 2,2,2-trifluoroetanol (50 ml) con trietilamina (2,24 ml, 16,1 mmol) y la mezcla se agitó bajo nitrógeno a temperatura ambiente durante 20 horas.

10 Se agregaron ácido (2*R*)-2,3-dihidro-1*H*-inden-2-il-((fenilmetil)oxi]carbonil)amino)etanóico (5,24 g, 16,1 mmol) y 2-benciloxifenilisonitrilo (3,37 g, 16,1 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente bajo nitrógeno durante 4 días. La mezcla se concentró bajo presión reducida y, a continuación, se repartió entre acetato de etilo (150 ml) y agua (150 ml) más bicarbonato sódico acuoso saturado (6 ml). La fase acuosa se volvió a extraer con acetato de etilo (50 ml) y los extractos orgánicos combinados se lavaron sucesivamente con soluciones acuosas semi-saturadas de bicarbonato sódico, cloruro amónico y cloruro sódico (100 ml cada una), se secaron sobre sulfato magnésico anhidro y se evaporaron bajo presión reducida, proporcionando el producto bruto (12,01 g). Este se purificó sobre una columna de gel de sílice Rediseq (330 g) y se eluyó con acetato de etilo al 20-50% en ciclohexano, proporcionando 15 7,46 g del compuesto del epígrafe en forma de un par de diastereómeros.

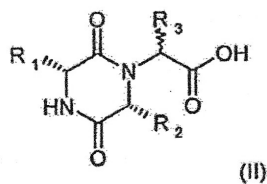
HPLC Rt = 3,88 y 3,96 minutos (gradiente 1); m/z [M+H]<sup>+</sup> = 797

**Compuesto intermedio 2**

20 El perfil farmacocinético ventajoso del compuesto de la invención se demostró fácilmente usando procedimientos convencionales para la medición de las propiedades farmacocinéticas de compuestos biológicamente activos.

El compuesto de la invención y las sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables tal como se han descrito anteriormente, pueden prepararse mediante procedimientos descritos en la presente invención más adelante, constituyendo dichos procedimientos un aspecto adicional de la invención. En la descripción siguiente, los grupos son tal como anteriormente se han definido para compuestos de la invención, salvo que se establezca lo contrario.

25 Los compuestos de fórmula (I) pueden prepararse mediante la reacción del ácido carboxílico (II), en el que R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> tienen los significados definidos en la fórmula (I), y la quiralidad en R<sub>3</sub> es o bien R o bien S, o una mezcla de las mismas.



30 o un derivado activado de los mismos con la amina HNR<sub>4</sub>R<sub>5</sub>, en la que R<sub>4</sub> y R<sub>5</sub> tienen el significado definido en la fórmula (I), bajo condiciones convencionales para la preparación de amidas, a partir de un ácido carboxílico o un derivado activado del mismo y una amina.



Es de resaltar que la mezcla de diastereómeros de compuesto de la fórmula (I) obtenidos a partir de la reacción anterior, pueden separarse usando técnicas de resolución convencionales bien conocidas en la técnica, por ejemplo cromatografía de columna.

De acuerdo con ello, la amida de la fórmula (I) puede prepararse tratando el ácido carboxílico de la fórmula (II) con un agente de activación tal como BOP (hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxi-tris(dimetilamino)fosfonio), TBTU (tetrafluoroborato de 2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio), BOP-Cl (cloruro bis(2-oxo-3-oxazolidinilo)fosfínico), cloruro de oxalilo o 1,1'-carbonildiimidazol, en un disolvente aprótico tal como diclorometano, opcionalmente en la presencia de una amina terciaria tal como trietilamina, y posterior reacción del producto así formado, es decir, el derivado activado del compuesto de fórmula (II), con la amina HNR<sub>4</sub>R<sub>5</sub>.

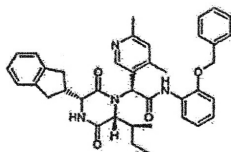
10 2-[(3R,6R)-3-(2,3-dihidro-1H-inden-2-il)-6-[(1S)-1-metilpropil]-2,5-dioxo-1-piperazinil]-2-(2,6-dimetil-3-piperidinil)-N-(2-hidroxifenil)acetamida

El N-[(2R)-2-(2,3-dihidro-1H-inden-2-il)-2-([(fenilmetil)oxi]carbonil)-amino]acetil]-N-[1-(2,6-dimetil-3-piridinil)-2-oxo-2-({2-[(fenilmetil)oxi]fenil}amino)etil]-D-aloisoleucinato de metilo bruto (compuesto intermedio 1) (7,46 g) se disolvió en etanol (150 ml) y ácido acético (10 ml) y la mezcla se hidrogenó a 100 kPa de H<sub>2</sub> sobre paladio al 10% sobre carbón. 15 (tipo Degussa) (1,8 g mojado con agua 1:1 p/p) durante 18 horas. La mezcla de reacción se evaporó bajo presión reducida y el residuo se repartió entre acetato de etilo y agua con bicarbonato sódico acuoso saturado agregado hasta que la fase acuosa se basificó (pH 8). La fase acuosa se extrajo con acetato de etilo y los extractos orgánicos combinados se lavaron con bicarbonato sódico acuoso saturado:agua, 3:1 (100 ml) y, a continuación con salmuera seca antes de secarse sobre sulfato magnésico anhidro y se evaporaron bajo presión reducida. El producto bruto se purificó sobre una columna de sílice Rediseq (120 g) y se eluyó con metanol al 0-10% en acetato de etilo, proporcionando el compuesto del epígrafe en forma de un par de diastereómeros (2,94 g).

20 HPLC Rt = 2,75 y 2,81 minutos (gradiente 2); m/z [M+H]<sup>+</sup> = 541

HPLC Rt = 2,75 y 2,81 minutos (gradiente 2); m/z [M+H]<sup>+</sup> = 541

**Compuesto intermedio comparativo 3**



25 2-[(3R,6R)-3-(2,3-dihidro-1H-inden-2-il)-6-[(1S)-1-metilpropil]-2,5-dioxo-1-piperazinil]-2-(4,6-dimetil-3-piperidinil)-N-(2-[(fenilmetil)oxi]fenil)acetamida

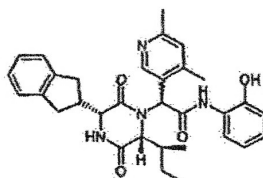
Se disolvieron 4,6-dimetil-3-piridinoaldehído<sup>1</sup> (2,52 g) e hidrocloreuro de D-aloisoleucinato de metilo (3,4 g) en 2,2,2-trifluoroetanol (50 ml). A estos, se agregó trietilamina (2,61 ml) y la mezcla de reacción se dejó reposar durante 18 horas. Se agregaron ácido (2R)-2,3-dihidro-1H-inden-2-il-([(1,1-dimetiletil)oxi]carbonil)amino)etanóico (5,44 g) e isocianuro de 2-[(fenilmetil)oxi]fenilo (4,18 g) con metanol (10 ml) a la mezcla de reacción y la solución se agitó a temperatura ambiente durante 3 días. El disolvente se eliminó en vacío y el residuo se separó entre diclorometano y agua. La fase orgánica se pasó a través de un fritado hidrófobo y se evaporó en vacío. El residuo se disolvió en cloruro de hidrógeno 4 N en dioxano (50 ml) y la mezcla de reacción se dejó reposar durante 4 horas. El disolvente se eliminó en vacío y el residuo se disolvió en diclorometano (200 ml). A esto se agregó trietilamina (20 ml) y la mezcla de reacción se dejó reposar durante 20 horas. La mezcla de reacción se separó entre diclorometano y agua. La fase orgánica se pasó a través de un fritado hidrófobo y se evaporó en vacío. El residuo se aplicó a columnas Biotage de 4x90 g y se eluyó con ciclohexano/acetato de etilo (1:1, 1:2 v/v) y acetato de etilo. Las fracciones requeridas se combinaron y evaporaron en vacío, proporcionando 2-[(3R,6R)-3-(2,3-dihidro-1H-inden-2-il)-6-[(1S)-1-metilpropil]-2,5-dioxo-1-piperazinil]-2-(4,6-dimetil-3-piperidinil)-N-(2-[(fenilmetil)oxi]fenil)acetamida (5,55 g, 47%), en forma de una espuma de color tostado.

35 HPLC Rt = 3,43, 3,45 minutos (gradiente 1); m/z [M+H]<sup>+</sup> = 631

HPLC Rt = 3,43, 3,45 minutos (gradiente 1); m/z [M+H]<sup>+</sup> = 631

Ref: 1. Comins L.; Weglarz, Michael A., J. Org. Chem., vol. 53, (nº 19), págs. 4437-4442, (1988).

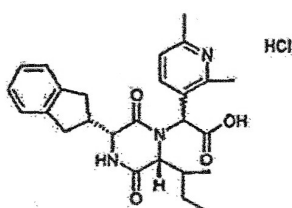
**Compuesto intermedio comparativo 4**



2-[(3R,6R)-3-(2,3-dihidro-1H-inden-2-il)-6-[(1S)-1-metilpropil]-2,5-dioxo-1-piperazinil]-2-(4,6-dimetil-3-piridinil)-N-(2-hidroxifenil)acetamida

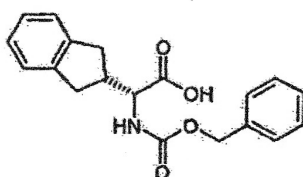
5 Se disolvió 2-[(3R,6R)-3-(2,3-dihidro-1H-inden-2-il)-6-[(1S)-1-metilpropil]-2,5-dioxo-1-piperazinil]-2-(4,6-dimetil-3-piridinil)-N-(2-hidroxifenil)acetamida (compuesto intermedio 3) (3,30 g) en etanol (75 ml) y se hidrogenó sobre paladio sobre carbón vegetal (Pd al 10% mojado, 0,50 g) durante 20 horas. El catalizador se separó por filtración y se lavó con diclorometano. El filtrado combinado y los lavados se evaporaron en vacío. El residuo se aplicó a una columna Biotage de 90 g y se eluyó con acetato de etilo. Las fracciones requeridas se combinaron y evaporaron en vacío, proporcionando 2-[(3R,6R)-3-(2,3-dihidro-1H-inden-2-il)-6-[(1S)-1-metilpropil]-2,5-dioxo-1-piperazinil]-2-(4,6-dimetil-3-piridinil)-N-(2-hidroxifenil)acetamida (2,43 g, 87%) en forma de un sólido de color amarillo pálido.

10 HPLC Rt = 2,86 minutos (gradiente 1); m/z [M+H]<sup>+</sup> = 541

**Compuesto intermedio 5**Hidrocloruro de ácido [(3R,6R)-3-(2,3-dihidro-1H-inden-2-il)-6-[(1S)-1-metilpropil]-2,5-dioxo-1-piperazinil](2,6-dimetil-3-piridinil)acético

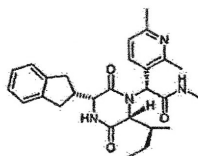
15 Se disolvieron 2-[(3R,6R)-3-(2,3-dihidro-1H-inden-2-il)-6-[(1S)-1-metilpropil]-2,5-dioxo-1-piperazinil]-2-(2,6-dimetil-3-piridinil)-N-(2-hidroxifenil)acetamida (24,25 g, 45 mmol) (compuesto intermedio 2) y 1,1'-carbonildiimidazol (11,7 g, 72 mmol) en diclorometano seco (200 ml) y se dejó reposar bajo nitrógeno durante 20 horas. El disolvente se eliminó en vacío y el residuo se disolvió en acetona (200 ml) y ácido clorhídrico 2 N (20 ml). Después de agitación durante 20 horas, el disolvente se eliminó en vacío y el residuo se disolvió en metanol (50 ml). La solución se aplicó a un cartucho de aminopropilo (2x70 g) y se eluyó con metanol (250 ml) y, a continuación, ácido acético al 10% en metanol (250 ml). Las fracciones requeridas se combinaron y evaporaron en vacío. El residuo se trató con ácido clorhídrico 2 N y la solución resultante se evaporó en vacío, proporcionando el compuesto del epígrafe hidrocloruro de ácido [(3R,6R)-3-(2,3-dihidro-1H-inden-2-il)-6-[(1S)-1-metilpropil]-2,5-dioxo-1-piperazinil](2,6-dimetil-3-piridinil)acético en forma de un sólido de color oscuro (12,21 g, 56%).

25 HPLC Rt = 2,48 minutos (gradiente 2); m/z [M+H]<sup>+</sup> = 450

**Compuesto intermedio comparativo 6**Ácido (2R)-2,3-dihidro-1H-inden-2-il-([(fenilmetil)oxi]carbonil)amino)etanóico

30 Se suspendió ácido (2R)-amino-(2,3-dihidro-1H-inden-2-il)etanóico (1,91 g, 10 mmol) en dioxano (10 ml) y agua (10 ml). A esto se agregó trietilamina (1,7 ml) y N-(benciloxycarbonilo)-succinimida (2,54 g) y la mezcla de reacción se agitó rápidamente a temperatura ambiente durante 2 días. La mezcla de reacción se vertió en agua (50 ml) y se extrajo con cloroformo (100 ml). La fase orgánica se lavó con ácido clorhídrico 1 N (50 ml) y agua (50 ml). Esta se secó sobre sulfato magnésico y el disolvente se eliminó en vacío, proporcionando el compuesto del epígrafe (3,06 g, 94%).

35 RMN-<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) δ 7,40-7,29 (m, 5H), 7,21-7,11 (m, 4H), 5,28 (d, 1H, J=8,6 Hz), 5,11 (s, 2H), 4,57 (m, 1H), 3,14-2,79 (m, 5H); LCMS m/z 326 (MH<sup>+</sup>), Rt 3,35 minutos (gradiente 2).

**Ejemplo Comparativo 1**

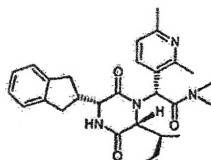
(2R)-{(3R,6R)-3-(2,3-dihidro-1H-inden-2-il)-6-[(1S)-1-metilpropil]-2,5-dioxo-1-piperazinil}-2-(2,6-dimetil-3-piridinil)-N-metiletanamida

- 5 Se agitaron 2-[(3R,6R)-3-(2,3-dihidro-1H-inden-2-il)-6-[(1S)-1-metilpropil]-2,5-dioxo-1-piperazinil]-2-(2,6-dimetil-3-piridinil)-N-(2-hidroxifenil)acetamida (compuesto intermedio 2) (0,400 g, 0,74 mmol) y 1,1'-carbonildiimidazol (0,192 g, 1,18 mmol) en diclorometano seco (10 ml) a temperatura ambiente bajo nitrógeno durante 7 horas. La mezcla se trató con una solución 2 M de metilamina en tetrahidrofurano (1,849 ml, 3,70 mmol) y se dejó reposar durante una noche a temperatura ambiente. Los disolventes se separaron bajo N<sub>2</sub> y el residuo se purificó sobre una columna de sílice Rediseq (35 g), se eluyó con metanol al 0-10% en acetato de etilo seguido de purificación adicional sobre una columna de fase inversa Komasil KR100-10-C18 y se eluyó con acetonitrilo acuoso (MeCN al 20-46%) conteniendo ácido fórmico al 0,1%. Esto proporcionó el compuesto del epígrafe en forma de un liofilizado de color blanco (30%) después de criodesecación a partir de 1,4-dioxano.

HPLC Rt = 2,44 minutos (gradiente 1); m/z [M+H]<sup>+</sup> = 463

- 15 RMN-<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) δ 7,63 (d, 1H), 7,25-7,15 (m, 4H), 7,05 (d, 1H), 6,79 (d, 1H), 5,96 (q, 1H), 5,35 (s, 1H), 4,07 (dd, 1H), 3,88 (d, 1H), 3,19-2,88 (m, 4H), 2,85 (d, 3H), 2,81-2,73 (m, 1H), 2,56 (s, 3H), 2,55 (s, 3H), 1,82-1,67 (m, 2H), 1,20-1,08 (m, 1H), 0,99 (d, 3H), 0,90 (t, 3H).

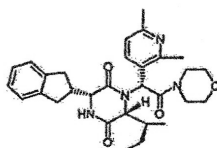
De manera similar, se preparó a partir del compuesto intermedio 2 y dimetilamina (2,0 M en tetrahidrofurano):

**Ejemplo Comparativo 2**

- 20 (2R)-{(3R,6R)-3-(2,3-dihidro-1H-inden-2-il)-6-[(1S)-1-metilpropil]-2,5-dioxo-1-piperazinil}-2-(2,6-dimetil-3-piridinil)-N,N-dimetiletanamida en forma de un liofilizado de color blanco (33%) después de criodesecación a partir de 1,4-dioxano. HPLC Rt = 2,69 minutos (gradiente 1); m/z [M+H]<sup>+</sup> = 477

- 25 RMN-<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) δ 7,49 (d, 1H), 7,27-7,15 (m, 4H), 7,08 (d, 1H), 6,66 (s, 1H), 6,30 (d, 1H), 4,10 (dd, 1H), 4,05 (d, 1H), 3,22-3,08 (m, 3H), 2,99-2,84 (m, 4H), 2,80-2,70 (m, 4H), 2,63 (s, 3H), 2,58 (s, 3H), 1,65-1,53 (m, 1H), 0,97-0,78 (m, 2H), 0,71 (t, 3H), 0,46 (d, 3H).

De manera similar, se preparó a partir del compuesto intermedio 2 y morfolina (3,7 mmol):

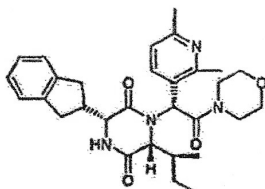
**Ejemplo 3 (Procedimiento A)**

- 30 (3R,6R)-3-(2,3-dihidro-1H-inden-2-il)-6-[(1R)-1-(2,6-dimetil-3-piridinil)-2-(4-morfolinil)-2-(2-oxoetil)-6-[(1S)-9-metilpropil]-2,5-piperazinodiona en forma de un liofilizado de color blanco (88 mg, 23%) después de criodesecación a partir de 1,4-dioxano.

HPLC Rt = 2,70 minutos (gradiente 2); m/z [M+H]<sup>+</sup> = 519

RMN-<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) δ 7,49 (d, 1H), 7,27-7,15 (m, 4H), 7,10 (d, 1H), 6,68 (s, 1H), 6,40 (d, 1H), 4,10 (dd, 1H), 4,01 (d, 1H), 3,74-3,52 (m, 5H), 3,28-3,07 (m, 5H), 2,97-2,84 (m, 2H), 2,79-2,71 (m, 1H), 2,62 (s, 3H), 2,59 (s, 3H), 1,65-1,53 (m, 1H), 0,98-0,80 (m, 2H), 0,70 (t, 3H), 0,45 (d, 3H).

### Ejemplo 3 (Procedimiento B)



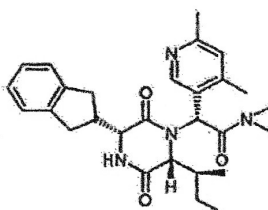
5

#### (3R,6R)-3-(2,3-dihidro-1H-inden-2-il)-1-[(1R)-1-(2,6-dimetil-3-piridinil)-2-(4-morfolinil)-2-(2-oxoetil)-6-[(1S)-1-metilpropil]-2,5-piperazinodiona

Se trató una suspensión de hidrocloreto de ácido {(3R,6R)-3-(2,3-dihidro-1H-inden-2-il)-6-[(1S)-1-metilpropil]-2,5-dioxo-1-piperazinil}(2,6-dimetil-3-piridinil)acético (5,0 g, 10,3 mmol) (compuesto intermedio 5) en diclorometano seco (50 ml) con 1,1'-carbonildiimidazol (2,6 g, 16 mmol) y la mezcla de reacción se agitó bajo nitrógeno durante 18 horas. Se agregó morfolina (4,8 ml, 55 mmol) y la solución resultante se dejó reposar bajo nitrógeno durante 18 horas. El disolvente se eliminó en vacío y el residuo se separó entre acetato de etilo y agua. La fase orgánica se lavó con salmuera y se secó sobre sulfato magnésico anhidro. El disolvente se eliminó en vacío y el residuo se disolvió en diclorometano. Este se aplicó a un cartucho de alúmina básica (240 g) y se eluyó usando un gradiente de metanol al 0-7,5% en éter dietílico (9 CV), metanol al 7,5-10% en éter dietílico (1 CV) y metanol al 10% en éter dietílico (1 CV). Las fracciones requeridas se combinaron y evaporaron en vacío, proporcionando (3R,6R)-3-(2,3-dihidro-1H-inden-2-il)-1-[(1R)-1-(2,6-dimetil-3-piridinil)-2-(4-morfolinil)-2-(2-oxoetil)-6-[(1S)-1-metilpropil]-2,5-piperazinodiona en forma de un sólido de color blanco (2,4 g, 45%).

HPLC Rt = 2,72 minutos (gradiente 2); m/z [M+H]<sup>+</sup> = 519

### 20 Ejemplo Comparativo 4



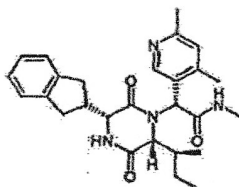
#### (2R)-2-[(3R,6R)-3-(2,3-dihidro-1H-inden-2-il)-6-[(1S)-1-metilpropil]-2,5-dioxo-1-piperazinil]-2-(4,6-dimetil-3-piridinil)-N,N-dimetiletanamida

Se disolvieron 2-[(3R,6R)-3-(2,3-dihidro-1H-inden-2-il)-6-[(1S)-1-metilpropil]-2,5-dioxo-1-piperazinil]-2-(4,6-dimetil-3-piridinil)-N-(2-hidroxifenil)acetamida (compuesto intermedio 4) (0,700 g) y 1,1'-carbonildiimidazol (0,324 g) en diclorometano seco (20 ml) y se dejó reposar durante 20 horas. Una parte de esta solución (10 ml) se agregó a una solución 2,0 M de dimetilamina en tetrahidrofurano (5 ml) y la mezcla de reacción se dejó reposar durante 3 días. La mezcla de reacción se separó entre diclorometano y solución de bicarbonato sódico acuoso saturado. La fase orgánica se pasó a través de un fritado hidrófobo y se evaporó en vacío. El residuo se aplicó a un cartucho de sílice (10 g) y se eluyó con acetato de etilo y, a continuación, con metanol al 5% en acetato de etilo. Las fracciones requeridas se evaporaron en vacío y el residuo se purificó adicionalmente usando Mass Directed AutoPrep. Esto proporcionó (2R)-2-[(3R,6R)-3-(2,3-dihidro-1H-inden-2-il)-6-[(1S)-1-metilpropil]-2,5-dioxo-1-piperazinil]-2-(4,6-dimetil-3-piridinil)-N,N-dimetiletanamida (0,10 g, 32%) en forma de una espuma de color blanca.

HPLC Rt = 2,82 minutos (gradiente 1); m/z [M+H]<sup>+</sup> = 477

35 RMN-<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) δ 8,32 (s, 1H), 7,26-7,15 (m, 4H), 7,08 (s, 1H), 6,71 (s, 1H), 6,16 (d, 1H), 4,17 (d, 1H), 4,10 (dd, 1H), 3,22-3,06 (m, 3H), 2,98 (s, 3H), 2,91 (m, 1H), 2,74 (dd, 1H), 2,67 (s, 3H), 2,57 (s, 3H), 2,39 (s, 3H), 1,56 (m, 1H), 0,93 (m, 1H), 0,85 (m, 1H), 0,68 (t, 3H), 0,45 (d, 3H).

De manera similar se preparó a partir de compuesto intermedio 4 y metilamina:

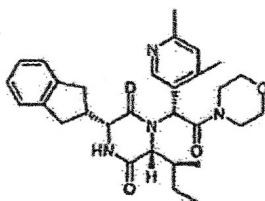
**Ejemplo Comparativo 5**

(2R)-2-((3R,6R)-3-(2,3-dihidro-1H-inden-2-il)-6-[(1S)-1-metilpropil]-2,5-dioxo-1-piperazinil)-2-(4,6-dimetil-3-piridinil)-N-metiletanamida

5 HPLC Rt = 2,60 minutos (gradiente 1); m/z [M+H]<sup>+</sup> = 463

RMN-<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) δ 8,48 (s, 1H), 7,25-7,14 (m, 4H), 7,04 (s, 1H), 6,72 (d, 1H), 6,07 (q, 1H), 5,45 (s, 1H), 4,07 (dd, 1H), 3,90 (d, 1H), 3,17-3,04 (m, 3H), 2,92 (m, 1H), 2,86 (d, 3H), 2,76 (dd, 1H), 2,53 (s, 3H), 2,33 (s, 3H), 1,70 (m, 2H), 1,12 (m, 1H), 0,94 (d, 3H), 0,87 (t, 3H).

De manera similar se preparó a partir de compuesto intermedio 4 y morfolina:

**10 Ejemplo Comparativo 6**

(3R,6R)-3-(2,3-dihidro-1H-inden-2-il)-1-[(1R)-1-(4,6-dimetil-3-piridinil)-2-(4-morfolinil)-2-oxoetil]-6-[(1S)-1-metilpropil]-2,5-piperazinodiona

HPLC Rt = 2,94 minutos (gradiente 2); m/z [M+H]<sup>+</sup> = 519

15 RMN-<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) δ 8,34 (s, 1H), 7,25-7,15 (m, 4H), 7,09 (s, 1H), 6,71 (s, 1H), 6,21 (d, 1H), 4,14-4,07 (m, 2H), 3,73-3,47 (m, 5H), 3,23-3,05 (m, 5H), 2,95-2,83 (m, 2H), 2,47 (dd, 1H), 2,58 (s, 3H), 2,38 (s, 3H), 1,56 (m, 1H), 0,94 (m, 1H), 0,86 (m, 1H), 0,68 (t, 3H), 0,44 (d, 3H).

**Actividad biológica**

20 Los Ejemplos 1-6 de la presente invención se testaron en todos los ensayos descritos más adelante. En la Tabla 1, más adelante, se muestran los resultados para cada uno de los compuestos. La Tabla 1 incluye igualmente un compuesto X para comparación.

**Ensayo 1****Determinación de la afinidad antagonista a los receptores de la Oxitocina-1 humana usando FLIPR***Cultivo de células*

25 Se mantuvieron células de ovario de hamster chino (CHO) adherentes, que expresan de manera estable el receptor de la Oxitocina-1 humana (hOT), en cultivo en medio DMEM:F12 (Sigma, n° de catálogo D6421) suplementado con suero vacuno fetal térmicamente inactivado al 10% (Gibco/Invitrogen, n° de catálogo 01000-147), L-glutamina 2 mM (Gibco/Invitrogen, n° de catálogo 25030-024) y 0,2 mg/ml de G418 (Gibco/Invitrogen, n° de catálogo 10131-027). Las células se desarrollaron como monocapas bajo aire:CO<sub>2</sub>, 95%:5%, a 37°C y pasas cada 3-4 días, usando TrypLE™ Express (Gibco/Invitrogen, n° de catálogo 12604-013).

*Medición de [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> usando el FLIPR™*

35 Se sembraron células CHO-hOT en placas de 384 pocillos, de base transparente y paredes oscuras (Nunc), a una densidad de 10.000 células por pocillo en medio de cultivo tal como se ha descrito anteriormente y se mantuvieron durante una noche (aire:CO<sub>2</sub>, 95%:5%, a 37°C). Después de la eliminación del medio de cultivo, las células se incubaron durante 1 hora a 37°C en medio de Tyrode (NaCl, 145 mM; KCl, 2,5 mM, HEPES, 10 mM; glucosa, 10 mM;

MgCl<sub>2</sub>, 1,5 mM, CaCl<sub>2</sub> 1,5 mM) conteniendo probenacid (0,7 mg/ml), el indicador de calcio citoplásmico, Fluo-4 (4 uM; Teflabs, USA) y el agente de inactivación Brilliant Black (250 uM; Molecular Devices, UK). A continuación, las células se incubaron durante un tiempo adicional de 30 minutos a 37°C o bien únicamente con tampón o bien con tampón conteniendo antagonista OT, antes de colocarlas en un FLIPR™ (Molecular Devices, UK) para monitorizar la fluorescencia de las células ( $\lambda_{\text{ex}} = 488 \text{ nm}$ ,  $\lambda_{\text{em}} = 540 \text{ nm}$ ) antes y después de la adición de una concentración sub-máxima de oxitocina (EC80).

#### Análisis de datos

Las respuestas funcionales usando FLIPR se analizaron usando la Activity Base Versión 5.0.10.

### Ensayo 2

#### 10 Ensayo de unión de la oxitocina

##### Preparaciones

Se prepararon membranas a partir de células CHO que expresan receptores de oxitocina recombinante humana. La preparación de la membrana se congeló en partes alícuotas a -70°C hasta su uso.

##### Protocolo de ensayo de unión

15 Las membranas (~50 ug) se incubaron en 200 ul de tampón de ensayo (Tris 50 mM, MgCl<sub>2</sub> 10 mM y albúmina de suero bovino al 0,1%, pH 7,5) conteniendo ~2,4 nM de [3H]-oxitocina en la ausencia (unión total) o presencia (unión no específica) de oxitocina no marcada 1 uM e incrementando la concentración de los compuestos en los Ejemplos 1 a 6 o el compuesto comparador. Las incubaciones se llevaron a cabo a temperatura ambiente durante 60 minutos. Las reacciones se interrumpieron con 3 ml de tampón enfriado en hielo y se filtraron a través de papel de filtro  
20 Whatmann GF/C preagitado en polietilenoimina al 0,3%. Los filtros se lavaron 4 veces con 3 ml de tampón usando un recolector de células Brandel. Los filtros se contaron en 3 ml de fluido de centelleo Ready Safe (Beckman).

La unión específica representó aproximadamente el 90% de la unión total.

##### Análisis de datos

25 Los valores de IC<sub>50</sub> se determinaron a partir de los experimentos de unión de competencia usando análisis de regresión no lineal (Graph-Pad) y se convirtieron a Ki usando el procedimiento de Cheng y Prusoff, (1974). Los datos se reportaron como valores medios.

### Ensayo 3

#### Determinación del aclaramiento intrínseco *in vitro* en microsomas

30 El tampón de regeneración NADP para uso en incubaciones se preparó el mismo día del ensayo. Conteníó 7,8 mg de glucosa-6-fosfato (sal monosódica), 1,7 mg de NADP y 6 Unidades de glucosa-6-fosfato dehidrogenasa por 1 ml de bicarbonato sódico al 2%. Se prepararon microsomas (humano, hembra; mono cynomolgus, hembra; perro, hembra; rata, hembra) en tampón fosfato pH 7,4 y conteniendo 0,625 mg de proteína/ml. Salvo que se establezca lo contrario, todas las etapas posteriores se llevaron a cabo mediante un Tecan Genesis 150/8 RSP. Se preparó una solución madre 1,25 mM de los compuestos en acetonitrilo/agua, (1:1). Se agregaron 25 ul de la solución madre 1,25 mM a  
35 600 ul de acetonitrilo/agua, (1:1), para obtener una solución 50 uM. Para cada especie, se agregaron soluciones 50 uM (10 ul) a microsomas (790 ul) en una microplaca (Porvair, 96 pocillos profundos, cuadrados). Se transfirieron 400 ul de la solución microsomal conteniendo el compuesto a una microplaca (Porvair, 96 pocillos profundos, redondos) y se precalentaron a 37°C durante 5 minutos antes del inicio de las incubaciones. Todas las incubaciones se iniciaron mediante la adición de 100 ul de sistema de regeneración NADP a los microsomas precalentados. Las mezclas  
40 se incubaron a 37°C en un bloque de calentamiento Techne. Después de 0, 3, 6, 12 y 30 minutos de incubación, se tomaron partes alícuotas de 20ul y se agregaron a 100 ul de acetonitrilo conteniendo patrón interno.

Para la determinación del índice de metabolismo, se realizaron incubaciones a una concentración de compuesto de 0,5 uM y una concentración de proteína de 0,5 mg/ml. La concentración de disolvente en la incubación fue del 0,5%.

45 Las concentraciones del compuesto de ensayo se determinaron mediante LS/MS/MS; los resultados se reportaron como relaciones de área de pico de analito:patrón interno.

El índice de desaparición se calculó ajustando una disminución exponencial simple a la curva concentración-tiempo, usando Excel y el aclaramiento intrínseco se calculó usando la fórmula siguiente:

$$Cl_i = [\text{índice}(\text{l}/\text{min}) \cdot 52,5 \text{ mg proteína/g hígado}] / 0,5 \text{ mg proteína/ml}$$

Resultados

En los ensayos anteriores, se ensayaron los ejemplos 1 a 6 de la presente invención e igualmente un compuesto comparador X = (2R)-2-[(3R,6R)-3-(2,3-dihidro-1H-inden-2-il)-6-isobutil-2,5-dioxopiperazin-1-il]-N,N-dimetil-2-(6-metilpiridin-3-il)etenamida (Ejemplo 209 en la Patente WO 03/053443).

- 5 Cuando se ensayó el compuesto comparador X en los ensayos 1 y 2, mostró una potencia similar a la mostrada por los Compuestos 1 a 6 en la presente invención; de hecho, cada uno de estos compuestos mostró unos fpKi de entre 8,1 y 9,2 (Ensayo 1) y unos pki de entre 8,8 y 10,5 (Ensayo 2).

Sin embargo, los compuestos de la presente invención mostraron una sorprendente mejora en el aclaramiento intrínseco *in vitro* en microsomas (Ensayo 3), cuando se compararon con el compuesto comparador X.

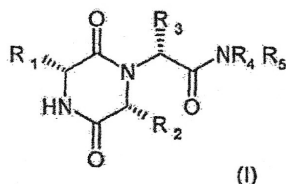
10

Tabla 1

Ensayo 3	CI microsomal (ml/min/g)			
	Rata	Perro	Mono cynomolgus	Humano
Comparador X	+	+	++++	++
Ejemplo Comparativo 1	+	+	+	+
Ejemplo Comparativo 2	+	+	++, +++	+. +
Ejemplo 3	+	+	+	+
Ejemplo Comparativo 4	+, +	+, +	+++++, +++++	++. +
Ejemplo Comparativo 5	+	+	+++	+
Ejemplo Comparativo 6	+	+	+++	+
<u>Clave de la Tabla 1</u>				
+ corresponde a 1-8 ml/min/mg				
++ corresponde a 9-15 ml/min/mg				
+++ corresponde a 16-20 ml/min/mg				
++++ corresponde a 21-30 ml/min/mg				
+++++ corresponde a >31 ml/min/mg				

## REIVINDICACIONES

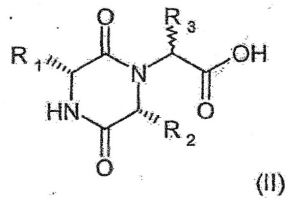
1. Un compuesto de fórmula (I)



- 5 en la que R<sub>1</sub> es 2-indanilo, R<sub>2</sub> es 1-metilpropilo, R<sub>3</sub> es 2,6-dimetil-3-piridilo, R<sub>4</sub> y R<sub>5</sub> conjuntamente con el átomo de nitrógeno al cual están unidos representan morfolino, o una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable del mismo, en el cual el ácido está seleccionado entre: ácido clorhídrico, bromhídrico, nítrico, fosfórico, sulfúrico, metanosulfónico, etanosulfónico, bencenosulfónico, p-toluenosulfónico, cítrico, tartárico, láctico, pirúvico, acético, succínico, fumárico y maléico.
- 10 **2.** Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, el cual es (3*R*, 6*R*)-3-(2,3-dihidro-1*H*-inden-2-il)-1-((1*R*)-1-(2,6-dimetil-3-piridinil)-2-(4-morfolinil)-2-oxoetil]-6-((1*S*)-metilpropil]-2,6-piperazinodiona o una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable del mismo, en el cual el ácido está seleccionado entre: ácido clorhídrico, bromhídrico, nítrico, fosfórico, sulfúrico, metanosulfónico, etanosulfónico, bencenosulfónico, p-toluenosulfónico, cítrico, tartárico, láctico, pirúvico, acético, succínico, fumárico y maléico.
- 15 **3.** Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, el cual es (3*R*, 6*R*)-3-(2,3-dihidro-1*H*-inden-2-il)-1-((1*R*)-1-(2,6-dimetil-3-piridinil)-2-(4-morfolinil)-2-oxoetil]-6-((1*S*)-metilpropil]-2,6-piperazinodiona.
- 4.** Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, el cual es la sal bencenosulfonato de (3*R*, 6*R*)-3-(2,3-dihidro-1*H*-inden-2-il)-1-((1*R*)-1-(2,6-dimetil-3-piridinil)-2-(4-morfolinil)-2-oxoetil]-6-((1*S*)-metilpropil]-2,6-piperazinodiona.
- 20 **5.** Una composición farmacéutica que comprende un compuesto o una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable del mismo, de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, conjuntamente con uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables.
- 6.** Un compuesto o una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable del mismo, de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, para uso en terapia.
- 7.** Un compuesto o una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable del mismo, de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, para uso en terapia en seres humanos.
- 25 **8.** Uso de un compuesto o una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable del mismo, de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, para la fabricación de un medicamento para antagonizar los efectos de la oxitocina sobre el receptor de la oxitocina.
- 9.** Uso de un compuesto o una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable del mismo, de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una o más enfermedades o estados seleccionadas entre parto prematuro, dismenorrea, endometriosis, hiperplasia prostática benigna, disfunción sexual, eyaculación precoz, obesidad, insuficiencia cardíaca congestiva, hipertensión arterial, cirrosis hepática, hipertensión nefrítica u ocular, trastorno obsesivo-compulsivo y trastornos neuropsiquiátricos.
- 30 **10.** Uso de acuerdo con la reivindicación 9, en la que dicha una o más enfermedades o estados están seleccionadas entre parto prematuro y eyaculación precoz.
- 35 **11.** Uso de acuerdo con la reivindicación 9, en la que dicha una o más enfermedades o estados es endometriosis.
- 12.** Uso de acuerdo con la reivindicación 9, en la que dicha una o más enfermedades o estados es hiperplasia prostática benigna.
- 13.** Uso de acuerdo con la reivindicación 9, en la que dicha una o más enfermedades o estados es insuficiencia cardíaca congestiva.
- 40 **14.** Uso de acuerdo con la reivindicación 9, en la que dicha una o más enfermedades o estados es dismenorrea.
- 15.** Uso de un compuesto o una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable del mismo, de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento o prevención de enfermedades o estados mediados a través de la acción de la oxitocina.
- 45 **16.** Un procedimiento de preparación de un compuesto de fórmula (I) tal como se reivindica en la reivindicación 1, el cual comprende:

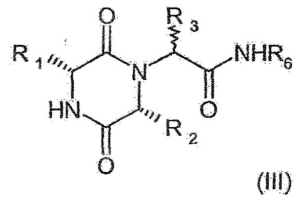


(a) hacer reaccionar un compuesto de fórmula (II)



5 en la que R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> tienen los significados definidos en la reivindicación 1 y la quiralidad en R<sub>3</sub> es o bien R o bien S o una mezclas de ellas, o un derivado activado del mismo, con la amina HNR<sub>4</sub>R<sub>5</sub>, en la que R<sub>4</sub> y R<sub>5</sub> tienen los significados definidos en la reivindicación 1, bajo condiciones convencionales para la preparación de amidas a partir de un ácido carboxílico o un derivado activado del mismo y una amina; o

(b) hacer reaccionar un compuesto de fórmula (III)



10 en la que R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> tienen los significados definidos en la reivindicación 1 y R<sub>6</sub> es 2-hidroxifenilo con 1,1'-carbonildiimidazol o 1,1'-tiocarbonildiimidazol en un disolvente adecuado y posterior reacción del producto así formado con amina HNR<sub>4</sub>R<sub>5</sub>, en la que R<sub>4</sub> y R<sub>5</sub> tienen los significados definidos en la reivindicación 1.

17. Un compuesto que es hidrocloreto de ácido {(3*R*,6*R*)-3-(2,3-dihidro-1*H*-inden-2-il)-6-[(1*S*)-1-metilpropil]-2,5-dioxo-1-piperazinil}(2,6-dimetil-3-piridinil)acético

