

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 664 403**

51 Int. Cl.:

**C07D 207/22** (2006.01)

**A61K 31/4025** (2006.01)

**A61P 5/10** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **25.07.2014 PCT/EP2014/066075**

87 Fecha y número de publicación internacional: **19.03.2015 WO15036160**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.07.2014 E 14744104 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.02.2018 EP 3044206**

54 Título: **O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona como antagonistas de receptores de oxitocina/vasopresina V1a para el tratamiento del trabajo de parto prematuro**

30 Prioridad:

**10.09.2013 EP 13183723**

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

**19.04.2018**

73 Titular/es:

**OBSEVA S.A. (100.0%)  
12, Chemin des Aulx  
1228 Plan-les-Ouates/Geneve, CH**

72 Inventor/es:

**CHOLLET, ANDRÉ**

74 Agente/Representante:

**ZUAZO ARALUZE, Alexander**

**Observaciones :**

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

ES 2 664 403 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).

**O-METILOXIMA DE (3Z,5S)-5-(HIDROXIMETIL)-1-[(2'-METIL-1,1'-BIFENIL-4-IL)CARBONIL]PIRROLIDIN-3-ONA  
COMO ANTAGONISTAS DE RECEPTORES DE OXITOCINA/VASOPRESINA V1A PARA EL TRATAMIENTO  
DEL TRABAJO DE PARTO PREMATURO**

5

## DESCRIPCIÓN

**Campo técnico**

10 La presente invención se refiere a un compuesto de fórmula O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona, que tiene acción antagonista en el receptor de oxitocina y/o el receptor de vasopresina V1a, a procedimientos para su preparación, a composiciones farmacéuticas que lo contienen y a su uso en medicina.

**Antecedentes de la invención**

15 La oxitocina (OT) es un nonapéptido cíclico que media sus acciones fisiológicas a través de la activación del receptor de oxitocina (OT-R), un receptor de la membrana celular que pertenece a la clase de receptores acoplados a proteínas G que es similar a los receptores de arginina-vasopresina. Una acción importante de la oxitocina (OT) es producir la contracción del útero de los mamíferos durante el trabajo de parto. La contracción repetida, concertada y regular del útero producirá la dilatación del cuello uterino, la rotura de las membranas fetales y conducirá a la expulsión del feto. El trabajo de parto prematuro es cuando estas contracciones se producen antes del término normal del embarazo. El aumento prematuro de la actividad uterina es la expresión más frecuente del trabajo de parto prematuro.

25 El trabajo de parto prematuro conduce a un parto prematuro no deseado, un problema de salud grave que sigue siendo la causa principal de mortalidad perinatal y morbilidad grave, especialmente síndrome de dificultad respiratoria, hemorragia intraventricular, displasia broncopulmonar y enterocolitis necrotizante que son mucho más frecuentes en los recién nacidos prematuros que en los recién nacidos a término. También son más frecuentes las alteraciones a largo plazo tales como parálisis cerebral, alteración visual e hipoacusia en los recién nacidos prematuros. En la actualidad, el parto prematuro sigue siendo la causa principal de morbilidad y mortalidad infantil en los países industrializados donde, pese a las mejoras significativas en la medicina obstétrica, está produciendo un alto coste para el cuidado intensivo neonatal de bebés prematuros. El coste real es incluso mayor para la sociedad cuando se tiene en cuenta la asistencia sanitaria por dolencias relacionadas con partos prematuros, tales como síndrome de dificultad respiratoria, cardiopatías, parálisis cerebral, epilepsia y dificultades de aprendizaje graves. El tratamiento del trabajo de parto prematuro representa un problema significativo en el campo de la obstetricia.

40 El sistema OT/OT-R desempeña un papel vital en el inicio del parto en mamíferos, en particular en seres humanos. La densidad de OT-R aumenta notablemente en el miometrio antes del comienzo y durante el trabajo de parto. Además, se cree que la concentración local de la hormona peptídica OT aumenta notablemente antes del parto en seres humanos. Las altas concentraciones circulantes de progesterona inducen quiescencia uterina mientras que el útero adquiere capacidad contráctil. Poco antes del término, las concentraciones plasmáticas de progesterona disminuyen, la expresión de OT-R en el útero aumenta notablemente, la OT se libera y la actividad contráctil uterina aumenta. A término, las contracciones siguen aumentando, dando como resultado un parto como resultado de dos ciclos de retroalimentación positiva que interaccionan. El primero es un ciclo uterino local: dentro del propio útero, se producen prostaglandinas contráctiles y se liberan en respuesta a la OT y las contracciones uterinas. Estas prostaglandinas pueden desempeñar un papel adicional en la maduración del cuello uterino y el debilitamiento de las membranas fetales. El segundo ciclo implica al hipotálamo: en respuesta a las contracciones uterinas y a la distensión de la vagina y el cuello uterino, las neuronas magnocelulares de oxitocina en el hipotálamo aumentan su actividad dando como resultado la liberación de OT de sus terminales axonales en el lóbulo posterior de la hipófisis. La OT liberada actúa sobre el útero tanto para estimular la producción adicional de prostaglandinas como para contribuir adicionalmente a las contracciones del útero.

50 Por tanto, el bloqueo del efecto de la OT antagonizando con OT-R podría representar una modalidad atractiva para el tratamiento de enfermedades relacionadas con la actividad de OT-R, en particular el trabajo de parto prematuro.

55 Se han usado agentes tocolíticos, es decir de relajación del útero, en estudios clínicos para el tratamiento farmacéutico del trabajo de parto prematuro. La mayoría de estos agentes se usan de manera no autorizada. Han demostrado tener una eficacia muy limitada, si la hay, en prolongar la gestación y sin una demostración clara de mejora en el desenlace del neonato. Los agentes tocolíticos actuales se asocian muy frecuentemente con efectos adversos no deseados en las mujeres, el feto o el neonato. Tales agentes tocolíticos incluyen agonistas beta-2-adrenérgicos, inhibidores de la síntesis de prostaglandinas, sulfato de magnesio, donadores de ácido nítrico y bloqueantes de los canales de calcio. Los agonistas beta-2-adrenérgicos tales como ritodrina o terbutalina producen varios efectos secundarios cardiovasculares y metabólicos incluyendo taquicardia, palpitaciones, hipotensión, función tiroidea alterada en la madre e hipoglucemia y taquicardia fetal y neonatal. La ritodrina ya no está aprobada por la FDA. El bloqueante de los canales de calcio nifedipina también es un medicamento que se usa para intentar detener las contracciones. Algunos de los efectos secundarios que pueden producirse incluyen rubor facial, cefalea,

65

náuseas, palpitaciones y sensación de mareo. Se ha usado el inhibidor de la síntesis de prostaglandina total (AINE) indometacina. También puede tener efectos graves sobre el feto: constricción del conducto arterial de Botal, hipertensión pulmonar, disminución en la función renal con oligohidramnios, hemorragia intraventricular, hiperbilirrubinemia, enterocolitis necrotizante. Los efectos secundarios maternos incluyen malestar abdominal, náuseas, vómitos, depresión y vahídos para la madre. Otro AINE es el sulindaco que tiene un perfil de efectos secundarios similar a indometacina. Para el sulfato de magnesio, los metanálisis no lo han apoyado como agente tocolítico. Las mujeres notificaron efectos secundarios importantes tales como sofocos, letargia, cefalea, debilidad muscular, edema pulmonar y paro cardíaco. Un recién nacido que se ha expuesto a sulfato de magnesio puede mostrar letargia, hipotonía, depresión respiratoria, problemas óseos, osteopenia y fracturas. Recientemente, la FDA está aconsejando a los profesionales sanitarios contra el uso de inyección de sulfato de magnesio durante más de 5-7 días para detener el trabajo de parto prematuro en mujeres.

El atosiban, un receptor V1a de vasopresina dual y antagonista de OT-R, está comercializado en la UE y se usa para detener las contracciones y retrasar el parto prematuro algunos días. El atosiban es un péptido que no está biodisponible por vía oral y debe administrarse por vía parenteral. Se degrada rápidamente en la circulación por enzimas y su uso se limita a un máximo de 48 h. Además, se desarrollaron antagonistas de OT-R no peptídicos tales como derivados de pirrolidina (documentos WO 01/72705, WO 02/102799, WO 2002/074741, WO 2004/005249) como mezclas de isómeros.

Sigue habiendo necesidades no satisfechas significativas de un antagonista de OT-R eficaz y selectivo por vía oral para el tratamiento de enfermedades relacionadas con la actividad de OT-R, en particular el trabajo de parto prematuro.

### Sumario de la invención

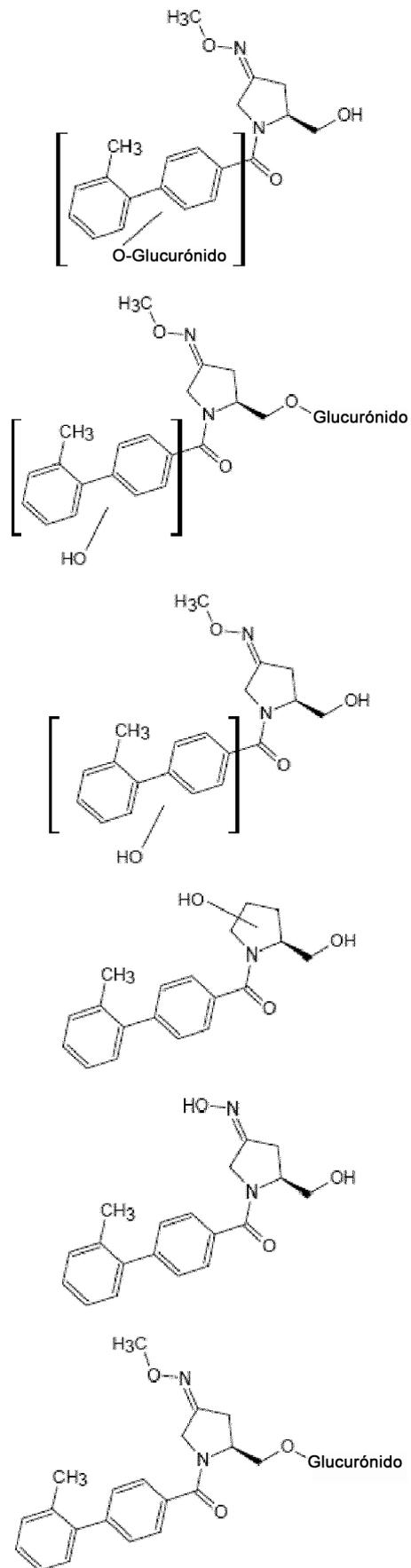
La presente invención proporciona un compuesto de fórmula O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona. La invención también proporciona un compuesto de fórmula O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona, para su uso como medicamento y composiciones farmacéuticas que comprenden dicho compuesto. También se proporciona un compuesto de fórmula O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona, para el tratamiento y/o la prevención de trastornos asociados con la actividad del receptor de oxitocina y/o la actividad del receptor de vasopresina V1a.

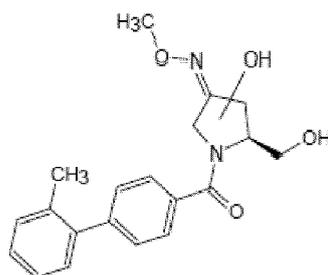
La invención proporciona además un procedimiento para preparar y aislar un compuesto de fórmula O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona, en forma sustancialmente pura.

### Descripción detallada de la invención

La presente descripción se refiere al compuesto de fórmula O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona, y/o un metabolito activo del mismo, estando dicho compuesto en la configuración isomérica Z en el grupo funcional O-metiloxima. El compuesto de fórmula O-metiloxima de (3E,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona difiere de los compuestos de la presente invención en el grupo funcional O-metiloxima que está en la configuración isomérica E.

Tal como se usa en el presente documento, el término "metabolito activo del mismo" se refiere a un producto producido a través del metabolismo en el cuerpo, o *in vitro*, de un compuesto específico, es decir en el presente caso O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona y que presenta la misma actividad biológica que O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona. Los metabolitos activos de O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona pueden identificarse usando técnicas de rutina conocidas en la técnica y sus actividades puede determinarse usando pruebas tales como las descritas en el presente documento. Tales metabolitos pueden resultar, por ejemplo, de la oxidación, glucuronidación u otra conjugación, hidrólisis, reducción y similares, de la forma Z administrada. Por consiguiente, la invención incluye metabolitos activos de O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona, incluyendo compuestos producidos mediante un procedimiento que comprende poner en contacto un compuesto de esta invención con un mamífero durante un periodo de tiempo suficiente como para producir un producto metabólico del mismo. Un metabolito de este tipo también puede producirse *in vitro* mediante oxidación, reducción, hidrólisis, glucuronidación u otra transformación por conjugación de la O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona correspondiente. Los ejemplos de metabolitos activos de O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona, incluyen compuestos cuyas estructuras se muestran a continuación:





Un compuesto que, tras su administración al receptor, puede convertirse en un compuesto de O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona y/o un metabolito activo del mismo tal como se describió anteriormente, se conoce como "profármaco". Por ejemplo, un profármaco puede convertirse dentro del organismo, por ejemplo mediante hidrólisis en la sangre, en su forma activa que tiene efectos medicinales. Se describen profármacos farmacéuticos aceptables en T. Higuchi y V. Stella, Prodrugs as Novel Delivery Systems, vol. 14 de la A. C. S. Symposium Series (1976); "Design of Prodrugs" ed. H. Bundgaard, Elsevier, 1985; y en Edward B. Roche, ed., Bioreversible Carriers in Drug Design, American Pharmaceutical Association and Pergamon Press, 1987, que se incorporan al presente documento como referencia.

El compuesto de la presente invención se produce mediante métodos tales como los dados a conocer por ejemplo en los documentos WO2004/005249 y WO2005/082848. Sin embargo, dicho compuesto se sintetiza y se obtiene en mezclas isoméricas comprendiendo O-metiloxima de (3Z/E,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona, O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona y O-metiloxima de (3E,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona.

Por tanto, la presente invención se refiere a un compuesto de fórmula O-metiloxima de (3Z/E,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona, y/o un metabolito activo del mismo que comprende al menos del 85% al 100% de un compuesto de fórmula O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona y/o un metabolito del mismo, preferiblemente del 85% al 99,9%, más preferiblemente del 90% al 99,9%, e incluso más preferiblemente del 95% al 99,9% de dicho compuesto.

Alternativamente, la presente invención se refiere a un compuesto de fórmula O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona, y/o un metabolito activo del mismo, proporcionado en forma sustancialmente pura.

Tal como se usa en el presente documento, el término "sustancialmente puro" se refiere a un compuesto proporcionado en una forma que está sustancialmente libre de otros compuestos. Los ejemplos de dichos "otros compuestos" incluyen O-metiloxima de (3E,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona, (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona, oxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona, (3R,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]-3-metoxiamino-pirrolidina, (3S,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]-3-metoxiamino-pirrolidina, O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(O-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona y O-metiloxima de (3E,5S)-5-(O-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona.

Lo más preferiblemente, el compuesto de fórmula O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona y/o un metabolito activo del mismo está sustancialmente libre del compuesto de fórmula O-metiloxima de (3E,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona.

Incluso más preferiblemente, la pureza de un compuesto de forma sustancialmente pura de fórmula O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona y/o un metabolito activo del mismo, es de al menos el 55%, al menos el 60%, al menos el 65%, al menos el 70%, al menos el 75%, al menos el 80%, al menos el 85%, al menos el 90%, al menos el 95%, al menos el 98%, al menos el 99%, al menos el 99,2%, al menos el 99,3%, al menos el 99,4%, al menos el 99,5%, al menos el 99,6%, al menos el 99,7%, al menos el 99,8%, al menos el 99,9% o al menos el 100% y, por tanto, está sustancialmente libre del compuesto de fórmula O-metiloxima de (3E,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona, es decir, menos del 45%, menos del 35%, menos del 25%, menos del 15%, menos del 10%, menos del 5%, menos del 3%, más preferiblemente menos del 2%, incluso más preferiblemente menos del 1%.

Incluso más preferiblemente, la pureza del compuesto de forma sustancialmente pura de fórmula O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona, y/o un metabolito activo del mismo, está al menos en el intervalo del 85% al 100%, preferiblemente del 85% al 99,9%, más preferiblemente del 90% al 99,9%, e incluso más preferiblemente en el intervalo del 95% al 99,9%.

Dependiendo de la nomenclatura usada, el compuesto de la invención "O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona" también puede definirse como O-metiloxima de "(4Z,2S)-2-

(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il-carbonil)]pirrolidin-4-ona".

Generalmente, el compuesto de fórmula O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona, y/o un metabolito activo del mismo, es un antagonista del receptor de oxitocina.

Tal como se usa en el presente documento, el término "agonista del receptor de oxitocina" se refiere a un compuesto que funciona inhibiendo (parcial o completamente) o bloqueando el receptor de oxitocina (OT-R), impidiendo de ese modo la activación del receptor por la oxitocina.

La presente invención proporciona un compuesto de fórmula O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona y/o un metabolito activo del mismo en el que dicho compuesto es un antagonista parcial o completo del receptor de oxitocina y en el que la constante de inhibidor  $K_i$  es de menos de aproximadamente  $1 \mu\text{M}$ . Preferiblemente, dicha constante de inhibidor  $K_i$  es de menos de aproximadamente  $0,1 \mu\text{M}$ , más preferiblemente de menos de aproximadamente  $0,06 \mu\text{M}$ .

La presente invención proporciona además un compuesto de fórmula O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona y/o un metabolito activo del mismo en el que dicho compuesto es un antagonista del receptor de oxitocina y en el que la concentración inhibitoria máxima  $CI_{50}$  es de menos de aproximadamente  $1 \mu\text{M}$ . Preferiblemente, dicha  $CI_{50}$  es de menos de aproximadamente  $0,1 \mu\text{M}$ , más preferiblemente menos de aproximadamente  $0,09 \mu\text{M}$ .

También generalmente, el compuesto de fórmula O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona, y/o un metabolito activo del mismo, es un antagonista del receptor de vasopresina V1a.

Tal como se usa en el presente documento, el término "antagonista del receptor V1a de vasopresina" se refiere a un compuesto que funciona inhibiendo (parcial o completamente) o bloqueando el receptor V1a de vasopresina (también conocido como receptor 1A de arginina-vasopresina), impidiendo de ese modo la activación del receptor por la vasopresina. El receptor V1a de vasopresina es uno de los tres tipos de receptor principales para la hormona peptídica arginina-vasopresina, siendo los otros los receptores V1b y V2.

Preferiblemente, el compuesto de fórmula O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona y/o un metabolito activo del mismo es un antagonista del receptor de vasopresina V1a, en el que la constante de inhibidor  $K_i$  es de menos de aproximadamente  $1 \mu\text{M}$ . Lo más preferiblemente, dicha constante de inhibidor  $K_i$  es de menos de aproximadamente  $0,5 \mu\text{M}$ , incluso más preferiblemente de menos de aproximadamente  $0,15 \mu\text{M}$ .

La presente invención también se refiere a un compuesto de fórmula O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona, y/o un metabolito activo del mismo, que es un antagonista del receptor de oxitocina y un antagonista del receptor de vasopresina V1a.

Habitualmente, el compuesto de fórmula O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona, y/o un metabolito activo del mismo, inhibe las contracciones uterinas. Ventajosamente, dicho compuesto inhibe las contracciones uterinas rápidamente en un transcurso de tiempo de 2-30, preferiblemente 5-20 minutos tras su administración.

Sorprendentemente, los solicitantes han demostrado que la actividad inhibitoria es específica para la forma Z sustancialmente pura de fórmula O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona, y/o un metabolito de la misma. Tal como se muestra en los ejemplos, la forma E sustancialmente pura de fórmula O-metiloxima de (3E,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona no muestra eficacia ya que no inhibe las contracciones uterinas.

El régimen de dosificación en relación con el compuesto de la presente invención y/o un metabolito activo del mismo se selecciona según una variedad de factores incluyendo el tipo, la especie, la edad, el peso, el sexo y el estado médico del paciente; la gravedad del estado que va a tratarse; la vía de administración; la función renal y hepática del paciente; y el compuesto o metabolito activo particular del mismo empleado. Un médico experto habitual puede determinar y recetar fácilmente la cantidad eficaz del fármaco requerida para prevenir, contrarrestar o detener el avance del estado.

Ventajosamente, un compuesto de la presente invención y/o un metabolito activo del mismo puede administrarse en una única dosis, o la dosificación total puede administrarse en dosis divididas de dos, tres o cuatro veces al día.

Preferiblemente, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona, y/o un metabolito activo del mismo, en el que dicho compuesto se administra a un sujeto en una única dosis de 50 mg a 900 mg, más preferiblemente en una única dosis de 100 mg a 600 mg.

Aunque un compuesto de la invención y/o un metabolito activo del mismo pueden usarse como el único principio activo en un medicamento, también es posible que el compuesto se use en combinación con al menos uno o más compuestos activos adicionales. Tales compuestos activos adicionales pueden ser además compuestos según la invención, u otros compuestos activos seleccionados del grupo que comprende bloqueantes de los canales de calcio, sulfato de magnesio, moduladores de prostaglandina selectivos, agonistas beta-2-adrenérgicos, agonistas de receptores beta-3-adrenérgicos y/o corticosteroides.

Alternativamente, el compuesto de la invención y/o un metabolito activo del mismo puede administrarse de manera concomitante o separada con al menos un compuesto seleccionado del grupo que comprende bloqueantes de los canales de calcio (tales como nifedipina), sulfato de magnesio, moduladores de receptores de prostaglandina (tales como agonistas o antagonistas de cualquiera de los receptores EP1 o EP2 o EP3 o EP4 o FP), inhibidores de la síntesis de prostaglandinas (tales como indometacina, nimesulida, sulindaco, rofecoxib, celecoxib), agonistas beta-2-adrenérgicos (tales como ritodrina, terbutalina, salbutamol), agonistas de receptores beta-3-adrenérgicos, donadores de ácido nítrico (tales como trinitrato de glicerilo) y/o corticosteroides (tales como dexametasona, betametasona).

Tal como se usa en el presente documento, el término “de manera concomitante” se refiere a la administración de un compuesto de fórmula O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona y/o un metabolito activo del mismo, que va seguida luego inmediatamente por la administración de al menos un compuesto seleccionado del grupo dado a conocer anteriormente en el presente documento.

Tal como se usa en el presente documento, el término “de manera separada (que engloba la administración secuencial o posterior)” se refiere a la administración de un compuesto de fórmula O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona y/o un metabolito activo del mismo, seguido por un periodo de tiempo de interrupción, que va seguida luego por la administración de al menos un compuesto dado a conocer anteriormente en el presente documento.

Generalmente, el compuesto de la invención es estable en el plasma. Tal como se usa en el presente documento el término “estable” se refiere a la presencia del compuesto de fórmula O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona, y/o un metabolito activo del mismo en el plasma del sujeto tras la administración y en el que se impide sustancialmente la interconversión isomérica de dichos compuestos.

Generalmente, en la presente invención el sujeto que lo necesita es preferiblemente un mamífero, lo más preferiblemente un ser humano, más preferiblemente una mujer, y lo más preferiblemente un ser humano hembra en edad fértil.

La presente invención también se refiere a un compuesto de fórmula O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona, y/o un metabolito activo del mismo, para su uso como medicamento.

También se contempla en la presente invención un compuesto de fórmula O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona, y/o un metabolito activo del mismo, para su uso en el tratamiento y/o la prevención de trastornos asociados con la actividad del receptor de oxitocina y/o la actividad del receptor de vasopresina V1a.

Los trastornos asociados con la actividad del receptor de oxitocina y/o la actividad del receptor de vasopresina V1a se seleccionan del grupo no limitativo que comprende trabajo de parto prematuro, parto prematuro, dismenorrea, eyaculación precoz, disfunción sexual, endometriosis, fallo de implantación del embrión debido a contracciones uterinas, esterilidad, hiperplasia prostática benigna, trastornos neuropsiquiátricos, autismo, trastornos de la conducta social, estrés psicosocial y/o trastornos cardiovasculares.

El término “trabajo de parto prematuro” que se denomina también trabajo de parto pretérmino, significa la expulsión del útero de un recién nacido viable antes del final normal de la gestación, o más particularmente, el comienzo del trabajo de parto con borramiento y dilatación del cuello uterino antes de la 37ª semana de gestación. Puede estar asociado o no con hemorragia vaginal o rotura de las membranas.

El término “dismenorrea” se refiere a un estado caracterizado por dolor cíclico asociado con la menstruación durante los ciclos ovulatorios. Se cree que el dolor es resultado de contracciones uterinas e isquemia.

El término “disfunción sexual” se refiere a cualquier alteración o variación en las cuatro fases, fase de excitación, fase de meseta, fase de orgasmo y fase de resolución que caracterizan la respuesta sexual humana.

El término “trastornos neuropsiquiátricos” tal como se usa en el presente documento se refiere a trastornos mentales atribuibles a enfermedades del sistema nervioso, por ejemplo depresión, trastorno obsesivo-compulsivo y otros.

El término “trastornos de la conducta social” tal como se usa en el presente documento se refiere a alteración emocional, tipos inapropiados de conducta o sentimientos, estado de ánimo dominante de infelicidad o depresión y

una variedad de dificultades percibidas para crear o mantener relaciones interpersonales satisfactorias.

El término “estrés psicosocial” tal como se usa en el presente documento se refiere a un estado que resulta de una amenaza percibida al estado social, la consideración social, la autoestima, el respecto o la aceptación dentro de un grupo, y que conduce al desarrollo de una respuesta de estrés en el organismo y a síntomas físicos.

Las tecnologías de reproducción asistida son métodos aplicados en seres humanos para el tratamiento de la esterilidad y en animales para producir embarazos. La esterilidad, que afecta aproximadamente al 10% de las parejas humanas en todo el mundo, puede tratarse mediante fecundación *in vitro* y transferencia de embriones (IVF-ET) o en los casos menos complicados, mediante inseminación artificial. Generalmente, el éxito de una transferencia de embriones depende de la receptividad uterina, una entidad que se define por la capacidad del útero para proporcionar las condiciones óptimas que exigen la implantación apropiada y el desarrollo embrionario. Los componentes básicos de la receptividad uterina son la actividad contráctil uterina y el estado del endometrio.

Las contracciones uterinas que se producen durante la transferencia de embriones pueden expulsar a los embriones del útero hacia la vagina o las trompas de Falopio, lo que puede ser una causa de un tratamiento insatisfactorio, o en el segundo caso una causa de un embarazo extrauterino, una complicación grave, potencialmente mortal.

Generalmente, la presente invención se refiere a un compuesto de fórmula O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona, y/o un metabolito activo del mismo, para su uso en tecnología de reproducción asistida.

Por ejemplo, la presente invención se refiere a un compuesto de fórmula O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona, y/o un metabolito activo del mismo, para su uso en el tratamiento de la esterilidad mediante el método de fecundación *in vitro*-transferencia de embriones (IVF-ET).

La presente invención también se refiere a un compuesto de fórmula O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona, y/o un metabolito activo del mismo, para su uso en la reducción del fallo de implantación del embrión debido a contracciones uterinas.

También se contempla en la presente invención un compuesto de fórmula O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona, y/o un metabolito activo del mismo, para su uso en la reducción de las contracciones que se producen durante la transferencia de embriones.

Además, la presente invención se refiere a un compuesto de fórmula O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona, y/o un metabolito activo del mismo, para su uso en el tratamiento y/o la prevención de una enfermedad en relación con contractilidad vascular inducida por oxitocina, contractilidad vascular inducida por vasopresina, contractilidad muscular inducida por oxitocina, contractilidad muscular inducida por vasopresina.

La presente invención se refiere además a una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona, y/o un metabolito activo del mismo, y un portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

Un “portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable” usado en el presente documento es un medio aceptado generalmente en la técnica para la administración de agentes biológicamente activos a pacientes. Un experto en la técnica es consciente de la amplia variedad de tales portadores, diluyentes o excipientes adecuados para formular una composición farmacéutica (véase, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18ª Ed. Mack Publishing Company, 1990, págs. 1289-1329). El/los portador(es), diluyente(s) o excipiente(s) debe(n) ser compatible(s) con los otros componentes de la formulación, debe(n) poder constituir una formulación farmacéutica y no ser perjudicial(es) para el receptor de la misma.

El compuesto de la invención y/o un metabolito activo del mismo, junto con un portador, diluyente o excipiente empleado de manera convencional pueden formularse como composiciones farmacéuticas y dosificaciones unitarias de las mismas, y de tal manera pueden emplearse como sólidos, tales como comprimidos o cápsulas llenadas, o líquidos tales como disoluciones, suspensiones, emulsiones, elixires, o cápsulas llenadas con los mismos, todos ellos para uso oral, o en forma de disoluciones inyectables estériles para uso parenteral (incluyendo subcutáneo). Tales composiciones farmacéuticas y formas de dosificación unitaria de las mismas pueden comprender componentes en proporciones convencionales, con o sin compuestos o principios activos adicionales, y tales formas de dosificación unitaria pueden contener cualquier cantidad eficaz adecuada del principio activo, es decir, el compuesto de la invención, acorde con el intervalo de dosificación diaria deseada que va a emplearse.

Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden administrarse mediante una variedad de vías incluyendo oral, rectal, vaginal, transdérmica, subcutánea, intravenosa, intramuscular e intranasal. Dependiendo de la vía de administración deseada, los compuestos se formulan preferiblemente como composiciones o bien inyectables o bien orales. Las composiciones para administración oral pueden adoptar la forma de disoluciones o suspensiones

líquidas a granel, o polvos a granel. Más frecuentemente, sin embargo, las composiciones se presentan en formas de dosificación unitaria para facilitar la dosificación precisa. El término "formas de dosificación unitaria" se refiere a unidades físicamente diferenciadas adecuadas como dosificaciones unitarias para sujetos humanos y otros mamíferos, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de material activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado, en asociación con un excipiente farmacéutico adecuado. Las formas de dosificación unitaria típicas incluyen ampollas o jeringas precargadas, medidas previamente de las composiciones líquidas o píldoras, comprimidos, cápsulas o similares en el caso de las composiciones sólidas. En tales composiciones, el compuesto de la invención es habitualmente un componente minoritario (desde aproximadamente el 0,1 hasta aproximadamente el 50% en peso o preferiblemente desde aproximadamente el 1 hasta aproximadamente el 40% en peso) siendo el resto diversos vehículos o portadores y adyuvantes de procesamiento útiles para formar la forma de dosificación deseada.

Preferiblemente, la composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona, y/o un metabolito activo del mismo, y un portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable se administra por vía oral, vaginal o intravenosa.

Las formas líquidas adecuadas para administración oral pueden incluir un vehículo acuoso o no acuoso adecuado con tampones, agentes de suspensión y dispensación, colorantes, aromas y similares. Las formas sólidas pueden incluir, por ejemplo, cualquiera de los componentes siguientes, o compuestos de naturaleza similar: un aglutinante tal como celulosa microcristalina, goma tragacanto o gelatina; un excipiente tal como almidón o lactosa, un agente disgregante tal como ácido alginico, Primogel, o almidón de maíz; un lubricante tal como estearato de magnesio; un deslizante tal como dióxido de silicio coloidal; un agente edulcorante tal como sacarosa o sacarina; o un agente saborizante tal como menta piperita, salicilato de metilo, o aromatizante de naranja.

Las composiciones inyectables normalmente se basan en solución salina o solución salina tamponada con fosfato inyectable u otros portadores inyectables conocidos en la técnica.

Los compuestos de esta invención también pueden administrarse en formas de liberación sostenidas o a partir de sistemas de administración de fármacos de liberación sostenida. Una descripción de materiales de liberación sostenida representativos también puede encontrarse en Gennaro, A. R. *et al*, Remington's Pharmaceutical Sciences. 18ª ed. Easton: The Mack Publishing Company, 1995.

La presente invención también se refiere a un procedimiento para preparar y aislar el compuesto de fórmula O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona, y/o un metabolito activo del mismo, en forma sustancialmente pura que comprende las etapas de:

a) cargar una mezcla isomérica en bruto que comprende un compuesto de fórmula O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona, y/o un metabolito activo del mismo, en una columna de cromatografía en gel;

b) purificar con alcohol al 1% en disolvente orgánico; y

c) purificar con alcohol al 2% en disolvente orgánico.

Tal como se usa en el presente documento, el término "mezcla isomérica en bruto" se refiere a una mezcla de compuestos que resulta de la síntesis de un compuesto de fórmula O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona, y/o un metabolito activo del mismo, tal como se describe en el presente documento y que comprende un compuesto de fórmula O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona y un compuesto de fórmula O-metiloxima de (3E,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona.

Preferiblemente, la invención se refiere a un procedimiento para preparar y aislar el compuesto de fórmula O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona, y/o un metabolito activo del mismo, en forma sustancialmente pura que comprende las etapas de:

a) cargar una mezcla isomérica en bruto que comprende un compuesto de fórmula O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona, y/o un metabolito activo del mismo, en una columna de cromatografía en gel de sílice;

b) purificar con metanol al 1% en tolueno;

c) purificar con metanol al 2% en tolueno.

Preferiblemente, la columna de cromatografía en gel de sílice se elige del sistema de cromatografía ultrarrápida Biotage® Flash 150, Biotage KP-SIL, Biotage KP-C18-HS, Biotage KP-C18-WP, Biotage KP-C-WP, Biotage FLASH-WAC 400 (Biotage AB, 751 03 Uppsala, Suecia). Otras columnas de cromatografía en gel incluyen columnas

cargadas con resinas Diaion™ HP20 o HP20SS SDVB de Mitsubishi (Mitsubishi Chemical Corporation, Tokio 100-8251, Japón).

## Ejemplos

5 Ejemplo 1: Purificación de O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona

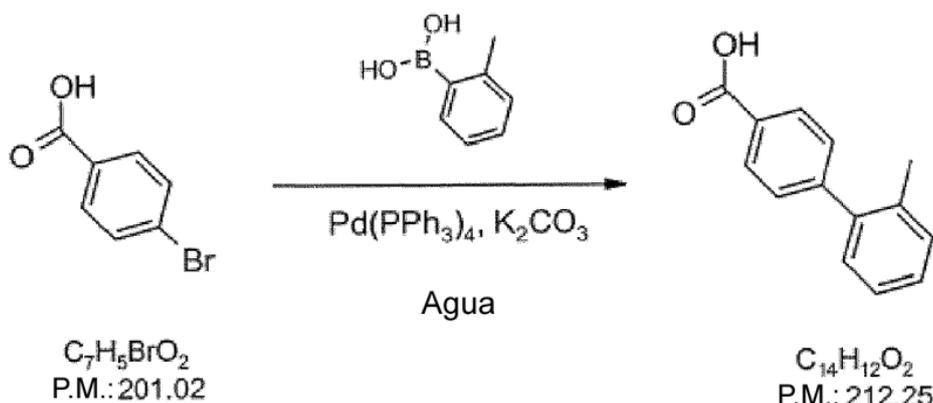
### 1.1 Síntesis de O-metiloxima de (3Z/E,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona

10 La presente invención se refiere a la síntesis y purificación de O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona obtenida como mezcla isomérica en bruto que comprende O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona y O-metiloxima de (3E,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona.

15 Rutas de síntesis de compuestos de la invención son, por ejemplo, las descritas en los documentos WO2004005249 y WO2005082848.

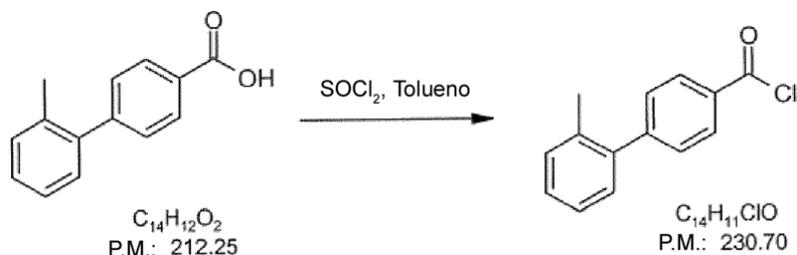
Por ejemplo, el compuesto de la invención O-metiloxima de (3Z/E,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona también puede prepararse siguiendo las etapas 1 a 7 tal como se describe a continuación:

20 Etapa 1: Preparación de ácido 4-(2-metilfenil)benzoico



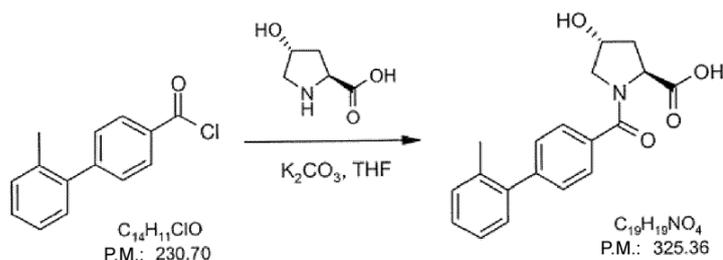
25 Se cargó una disolución de carbonato de potasio (0,908 kg, 6,57 mol, 2,06 en peso) en agua (2,20 l, 5,0 volúmenes) en una suspensión de ácido 4-bromobenzoico (0,441 kg, 2,19 mol, 1,0 en peso) en agua (4,41 l, 15,0 volúmenes) a de 15 a 25°C. Se agitó la suspensión resultante a de 15 a 25°C y se desgasificó tres veces usando un ciclo de purga de vacío-nitrógeno. Se cargó tetrakis(trifenilfosfina)paladio(0) (0,022 kg, 0,019 mol, 0,05 en peso) y se repitió el ciclo de purga de vacío-nitrógeno. Se desgasificó una disolución de ácido o-tolilborónico (0,313 kg, 2,30 mol, 0,707 en peso) en metanol (3,53 l, 8,0 volúmenes) tres veces, usando un ciclo de purga de vacío-nitrógeno, y después se cargó en la suspensión de ácido 4-bromobenzoico a de 15 a 25°C. Se calentó la mezcla de reacción hasta, y se mantuvo a, reflujo (de 71 a 78°C) hasta completarse la reacción (se considera que la reacción se ha completado a una conversión del 95%), según se determinó mediante análisis por <sup>1</sup>H-RMN (d6-DMSO), normalmente de 1,5 a 2,5 horas. Se concentró la mezcla de reacción hasta 15 volúmenes a vacío a de 40 a 45°C. Se añadieron tolueno (4,41 l, 10,0 volúmenes) y tetrahidrofurano (4,41 l, 10,0 volúmenes) al residuo, se agitó vigorosamente la mezcla resultante y se acidificó hasta pH 1 con ácido clorhídrico (6 M, 2,00 l, 4,5 volúmenes). Se agitó el contenido vigorosamente durante de 30 a 60 minutos y se separaron las fases. Se añadieron tolueno (2,20 l, 5,0 volúmenes) y tetrahidrofurano (2,20 l, 5,0 volúmenes) a la fase acuosa y se agitó la mezcla durante de 5 a 10 minutos. Se separaron las fases, se filtraron las fases orgánicas combinadas y se concentraron hasta 10,0 volúmenes a vacío a de 35 a 40°C. Se añadió tolueno (4,41 l, 10,0 volúmenes) al residuo y se concentró el resultante a vacío a de 35 a 40°C. Se determinó el contenido en tetrahidrofurano de la suspensión resultante mediante análisis por <sup>1</sup>H-RMN (d6-DMSO) (nivel de paso: ≤1,0% p/p de tetrahidrofurano con respecto a tolueno). Se enfrió la suspensión hasta, y se envejeció a, de 0 a 5°C durante de 30 a 60 minutos, se recogió el sólido mediante filtración y se lavó la torta de filtro con tolueno (2,20 l, 5,0 volúmenes). Se secó el sólido en un horno de vacío a de 35 a 40°C para dar ácido 4-(2-metilfenil)benzoico [0,438 kg, 94,1% teórico, 99,3% p/p, <sup>1</sup>H-RMN (d6-DMSO) que concuerda con la estructura] como un sólido de color amarillo pálido.

Etapa 2: Preparación de cloruro del ácido 4-(2-metilfenil)benzoico



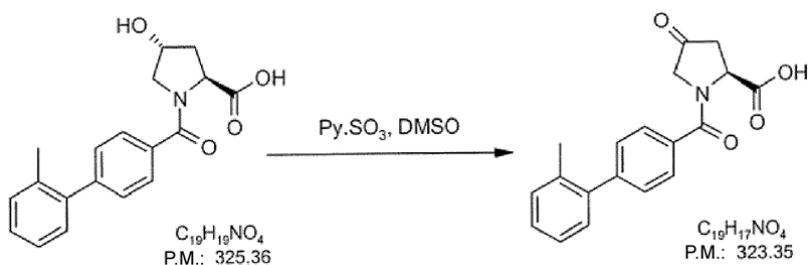
5 Se añadió cloruro de tionilo (0,300 l, 4,11 mol, 0,685 volúmenes) a una suspensión de ácido 4-(2-metilfenil)benzoico (0,435 kg, 2,05 mol, 1,0 en peso) en tolueno (4,35 l, 10,0 volúmenes) a de 10 a 25°C y se calentó la mezcla hasta, y se mantuvo a, de 75 a 80°C hasta completarse mediante análisis por  $^1H$ -RMN (d6-benceno), normalmente de 4 a 5 horas. La terminación de la reacción estaba acompañada por la formación de una disolución turbia. Se concentró lo resultante hasta 5,0 volúmenes mediante eliminación de tolueno a presión reducida a de 35 a 45°C. Se añadió tolueno (2,18 l, 5,0 volúmenes) al concentrado y se concentró la mezcla hasta 4,0 volúmenes mediante eliminación de tolueno a presión reducida a de 35 a 45°C. Se filtró lo resultante a través de papel de microfibras de vidrio y se lavó la torta de filtro con tolueno (0,44 l, 1,0 volúmenes). La disolución en tolueno de cloruro del ácido 4-(2-metilfenil)benzoico [0,439 kg, 92,8% teórico, 100,9% p/p,  $^1H$ -RMN (d6-benceno) que concuerda con la estructura] se usó directamente en la etapa 3.

15 Etapa 3: Preparación de (4R)-4-hidroxi-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)-carbonil]-L-prolina



20 Se cargó una disolución de carbonato de potasio (0,526 kg, 3,81 mol, 1,2 en peso) en agua (0,57 l, 1,3 volúmenes) en una disolución de 4-hidroxi-L-prolina (0,274 kg, 2,09 mol, 0,625 en peso) en tetrahidrofurano (2,20 l, 5,0 volúmenes) y agua (0,44 l, 1,0 volúmenes) a de 15 a 25°C seguido por un aclarado en línea de agua (0,44 l, 1,0 volúmenes). Se enfrió la mezcla hasta de 0 a 5°C con agitación rápida y se cargó una disolución de cloruro del ácido 4-(2-metilfenil)benzoico (0,438 kg, 1,90 mol, 1,0 en peso) en tolueno (2,19 l, 5,0 volúmenes) a esa temperatura seguido por un aclarado en línea de tolueno (0,44 l, 1,0 volúmenes). Se calentó la mezcla de reacción hasta de 15 a 25°C a lo largo de 1 a 2 horas y se agitó a esta temperatura hasta que se consideró completa mediante análisis por CCF. Se cargó agua (2,20 l, 5,0 volúmenes) en la mezcla de reacción a de 15 a 25°C y se separaron las fases. Se acidificó la fase acuosa hasta pH de 5 a 6 con ácido clorhídrico ac. (6 M, 0,66 l, 1,5 volúmenes) y después hasta pH 1 con ácido clorhídrico ac. (2 M, 0,88 l, 2,0 volúmenes) a de 15 a 25°C. Se enfrió la mezcla hasta, y se envejeció a, de 0 a 5°C durante de 30 a 60 minutos, se recogió el sólido precipitado mediante filtración, se lavó la torta de filtro con agua (2x 1,75 l, 2x 4,0 volúmenes) y tolueno (0,88 l, 2,0 volúmenes) y se secó sobre el filtro durante de 12 a 24 horas. Se secó el sólido recogido a vacío a de 40 a 45°C hasta que el contenido en agua mediante KF era  $\leq 0,2\%$  p/p para proporcionar (4R)-4-hidroxi-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]-L-prolina [0,599 kg, 97,0% teórico, 136,8% p/p,  $^1H$ -RMN (d6-DMSO) que concuerda con la estructura] como un sólido blanquecino.

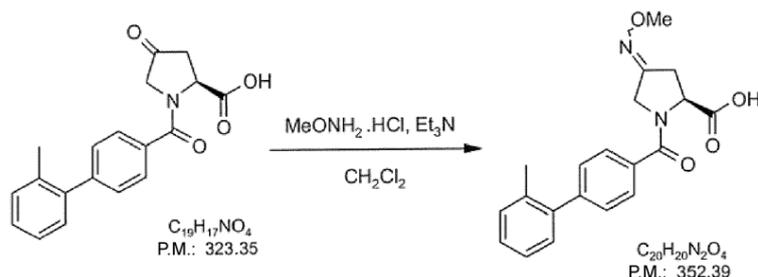
35 Etapa 4: Preparación de 1-(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil-4-oxo-L-prolina



40 Se cargó trietilamina (1,80 l, 13,56 mol, 3,0 volúmenes) en una disolución de (4R)-4-hidroxi-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]-L-prolina (0,598 kg, 1,84 mol, 1,0 en peso) en dimetilsulfóxido (4,42 l, 7,4 volúmenes) a de 15 a 20°C. Se cargó complejo de piridina-trióxido de azufre (0,879 kg, 5,52 mol, 1,47 en peso) en porciones a 15 y 25°C y se agitó la mezcla de reacción a esa temperatura hasta completarse la reacción, según se determinó mediante análisis por

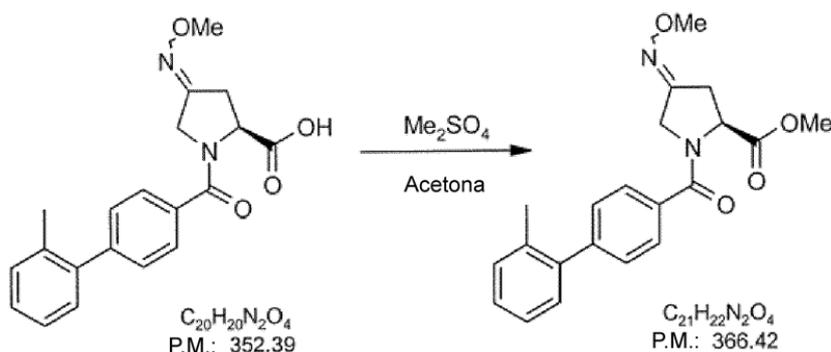
CCF (normalmente de 1 a 3 horas). Se extinguió la reacción con ácido clorhídrico ac. (3 M, 4,80 l, 8,0 volúmenes) a de 0 a 30°C, se cargaron tetrahidrofurano (3,00 l, 5,0 volúmenes) y heptanos (0,60 l, 1,0 volúmenes), se separaron las fases y se extrajo la fase acuosa con tetrahidrofurano (2x 3,00 l, 2x 5,0 volúmenes). Se lavaron las fases orgánicas combinadas con ácido clorhídrico ac. (1 M, 2x 1,20 l, 2x 2,0 volúmenes) y disolución saturada de cloruro de sodio (2x 1,20 l, 2x 2,0 volúmenes), se combinaron los lavados acuosos y se sometieron a reextracción con tetrahidrofurano (2x 0,60 l, 2x 1,0 volúmenes). Se secaron las fases orgánicas combinadas sobre sulfato de magnesio (1,794 kg, 3,0 en peso), se filtraron, se lavó la torta de filtro con tetrahidrofurano (0,60 l, 1,0 volúmenes) y se concentraron los filtrados a vacío a de 40 a 45°C para dar una espuma de color marrón pálido. Se cargó acetato de etilo (6,00 l, 10,0 volúmenes) en la espuma, se agitó el contenido durante de 5 a 10 minutos para obtener la disolución y se eliminó el disolvente a vacío a de 40 a 45°C. Se repitió esto usando acetato de etilo (6,00 l, 5,0 volúmenes) hasta que no se detectó tetrahidrofurano mediante análisis por <sup>1</sup>H-RMN (d<sub>6</sub>-DMSO). Se suspendió el residuo en acetato de etilo (4,80 l, 8,0 volúmenes), se añadió carbono activado (0,084 kg, 0,14 en peso) seguido por un aclarado en línea de acetato de etilo (3,00 l, 5,0 volúmenes), se calentó lo resultante hasta, y se mantuvo a, de 70 a 80°C durante de 20 a 30 minutos, se enfrió hasta de 40 a 55°C y se filtró a través de papel de microfibras de vidrio. Se lavó la torta de filtro con acetato de etilo (1,50 l, 2,5 volúmenes) y se lavaron los filtrados combinados y se concentraron hasta de 2,5 a 3,5 volúmenes a vacío a de 40 a 45°C. La cristalización comenzó durante la concentración. Se transfirió el concentrado a un recipiente adecuado con un aclarado en línea de acetato de etilo (0,30 l, 0,5 volúmenes) y se calentó hasta de 70 a 80°C. Se añadió acetato de etilo adicional (0,30 l, 0,5 volúmenes) según fue necesario para lograr la disolución. Se añadieron heptanos (1,80 l, 3,0 volúmenes) a de 70 a 80°C y se dejó enfriar el contenido hasta entre 15 y 25°C a lo largo de 1 a 2 horas. Se enfrió adicionalmente la suspensión hasta, y se envejeció a, de 0 a 5°C durante de 2 a 3 horas, se filtró y se lavó la torta de filtro con acetato de etilo:heptanos (1:1, 0,60 l, 1,0 volúmenes) a de 0 a 5°C seguido por heptanos (3,0 l, 2,5 volúmenes). Se secó el sólido recogido a vacío a de 40 a 45°C para dar 1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]-4-oxo-L-prolina [0,444 kg, 74,7% teórico, 74,2% p/p, <sup>1</sup>H-RMN (d<sub>6</sub>-DMSO) que concuerda con la estructura] como un sólido blanquecino.

Etapa 5: Preparación de (4Z/E)-4-metoxiimino-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]-L-prolina



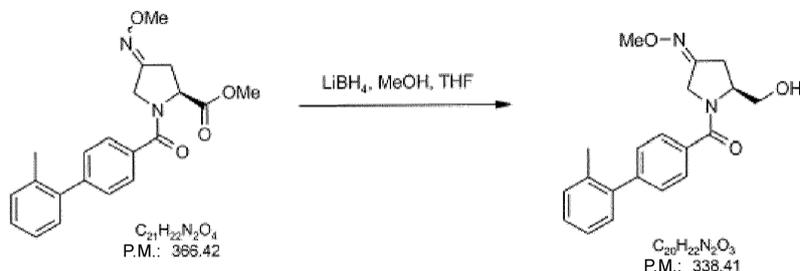
Se añadió trietilamina (0,40 l, 2,85 mol, 0,92 volúmenes) a una disolución de 1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]-4-oxo-L-prolina (0,434 kg, 1,34 mol, 1,0 en peso) en diclorometano (4,40 l, 10,0 volúmenes) a de 10 a 25°C seguido por un aclarado en línea de diclorometano (0,43 l, 1,0 volúmenes). Se añadió clorhidrato de metoxilamina (0,130 kg, 1,56 mol, 0,30 en peso) en porciones a de 10 a 25°C seguido por un aclarado en línea de diclorometano (0,43 l, 1,0 volúmenes) y se agitó la mezcla de reacción a de 10 a 25°C hasta completarse la reacción, según se determinó mediante análisis por CCF (normalmente de 3 a 5 horas, eluyente de CCF: diclorometano:metanol:ácido acético (90:10:1); visualización por UV). Se eliminó el disolvente a vacío a de 35 a 40°C, se disolvió lo resultante en acetato de etilo (4,40 l, 10,0 volúmenes) y se lavó con ácido clorhídrico ac. (1 M, 2x 2,20 l, 2x 5,0 volúmenes). Se sometieron los lavados ácidos a reextracción con acetato de etilo (2,20 l, 5,0 volúmenes), se lavaron las fases orgánicas combinadas con disolución ac. sat. de cloruro de sodio (3,10 l, 7,0 volúmenes), se secaron sobre sulfato de magnesio (0,300 kg, 0,69 en peso), se filtraron y se lavó la torta de filtro con acetato de etilo (2,20 l, 5,0 volúmenes). Se combinaron el filtrado y los lavados y se concentraron a vacío a de 35 a 40°C para proporcionar 4-metoxiimino-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]-L-prolina [0,476 kg, 100,6% teórico, 109,6% p/p, <sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>) que concuerda con la estructura] como un sólido blanquecino.

Etapa 6: Preparación de pirrolidin-2-carboxilato de (4Z/E,2S)-metil-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]-4-metoxiimino



Se añadió carbonato de potasio (0,476 kg, 3,44 mol, 1,0 en peso) a una disolución de 4-metoxiimino-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonyl]-L-prolina (0,475 kg, 1,35 mol, 1,0 en peso) en acetona (4,75 l, 10,0 volúmenes) y se enfrió la mezcla hasta de 0 a 10°C. Se añadió sulfato de dimetilo (0,128 l, 1,35 mol, 0,27 volúmenes) a de 0 a 15°C y se agitó la mezcla a de 15 a 25°C hasta completarse la reacción, según se determinó mediante análisis por CCF, normalmente de 3 a 16 horas. Se eliminó el disolvente a vacío a de 40 a 45°C y se repartió lo resultante entre acetato de etilo (3,80 l, 8,0 volúmenes) y agua (3,80 l, 8,0 volúmenes). Se separaron las fases, se lavó la fase orgánica con disolución ac. sat. de cloruro de sodio (2,85 l, 6,0 volúmenes), se secó sobre sulfato de sodio (0,953 kg, 2,0 en peso) y se filtró. Se lavó la torta de filtro con acetato de etilo (0,48 l, 1,0 volúmenes) y se concentraron el filtrado y el lavado combinados a vacío a de 40 a 45°C. Se eliminó el exceso de acetato de etilo mediante destilación azeotrópica con tetrahidrofurano (2x 0,95 l, 2x 2,0 volúmenes) a vacío a de 40 a 45°C para dar pirrolidin-2-carboxilato de (4Z/E,2S)-metil-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)-carbonyl]-4-metoxiimino [0,492 kg, 99,6% teórico, 103,6% p/p, <sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>) que concuerda con la estructura] como un aceite marrón viscoso.

Etapa 7: Preparación de O-metiloxima de (3Z/E,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonyl]pirrolidin-3-ona



Se añadió borohidruro de litio (0,049 kg, 2,26 mol, 0,1 en peso) en porciones bajo nitrógeno a una disolución con agitación de pirrolidin-2-carboxilato de (4Z/E,2S)-metil-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)-carbonyl]-4-metoxiimino (0,492 kg, 1,34 mol, 1,0 en peso) en tetrahidrofurano (2,31 l, 4,7 volúmenes) y metanol (2,31 l, 4,7 volúmenes) a de 0 a 30°C. Se agitó la mezcla a de 15 a 25°C hasta completarse la reacción, según se determinó mediante análisis por CCF (eluyente: acetato de etilo; visualización: ninhidrina), normalmente de 2 a 6 horas. Se extinguió la mezcla de reacción con agua (0,40 l, 0,8 volúmenes) a de 15 a 25°C y se agitó a de 15 a 25°C durante de 16 a 20 horas. Se concentró lo resultante a vacío a de 40 a 45°C y se repartió el residuo entre agua (2,46 l, 5,0 volúmenes) y acetato de etilo (4,92 l, 10,0 volúmenes). Se separaron las fases, se lavó la fase orgánica secuencialmente con ácido clorhídrico ac. (1 M, 2,46 l, 5,0 volúmenes), disolución ac. sat. de hidrogenocarbonato de sodio (2,46 l, 5,0 volúmenes) y disolución ac. sat. de cloruro de sodio (2,46 l, 5,0 volúmenes). Se secó la fase orgánica sobre sulfato de magnesio (0,985 kg, 2,0 en peso), se filtró y se lavó la torta de filtro con acetato de etilo (0,50 l, 1,0 volúmenes). Se concentraron el filtrado y el lavado combinados a vacío para dar una mezcla isomérica en bruto que comprendía O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonyl]pirrolidin-3-ona y O-metiloxima de (3E,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonyl]pirrolidin-3-ona [0,395 kg, 86,9% teórico, 80,3% p/p, <sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>) que concuerda con la estructura; el 82,0% de área mediante HPLC, razón Z/E de 71,4:28,6] como un aceite marrón viscoso. Se disolvió el aceite en tolueno (0,40 l, 1,0 volúmenes, con respecto al peso de producto) y se almacenó hasta que se requirió.

1.2 Cromatografía ultrarrápida en seco de O-metiloxima de (3Z/E,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonyl]pirrolidin-3-ona en bruto

Se intentó una purificación mediante cromatografía ultrarrápida en seco de la mezcla isomérica en bruto obtenida siguiendo el protocolo descrito anteriormente usando diferentes condiciones de elución. Volvió a disolverse una mezcla en bruto de O-metiloxima de (3Z/E,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonyl]pirrolidin-3-ona concentrada hasta sequedad en 2 volúmenes de tolueno y se cargó sobre un lecho de SiO<sub>2</sub> (5 en peso) antes de la elución usando fracciones de 25 volúmenes de eluyente.

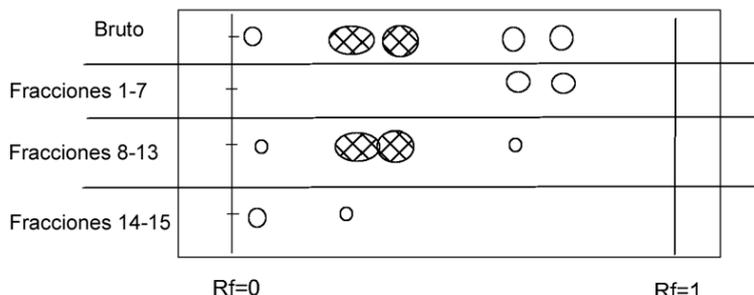
Fracciones 1-5: se eluyeron con tolueno puro

Fracciones 6-10: se eluyeron con tolueno / MeOH al 1% vol/vol

5

Fracciones 10 a 15: se eluyeron con tolueno / MeOH al 2% vol/vol

Perfil de CCF esquemático de las fracciones recogidas



10 Las formas Z y E se muestran mediante puntos con sombreado. Se combinaron las fracciones 8 a 13 y se concentraron hasta sequedad. Los resultados muestran una recuperación del 75%. No hubo ninguna mejora de la razón E/Z. Se observó una ganancia minoritaria de aproximadamente el 4% de área en la pureza de la mezcla isomérica (E+Z) antes y después de la cromatografía ultrarrápida en seco (tabla I).

15 Tabla I: Perfil de impurezas comparativo antes y después de la cromatografía ultrarrápida en seco

	Área en %			
	Impureza a TRR 0,7	Isómeros E+Z	Impureza a TRR 1,08	TRR 1,12 (Ar-ArCH <sub>2</sub> OH)
Antes de la cromatografía ultrarrápida en seco	4,6	91,3	<0,5	4,1
Después de cromatografía ultrarrápida en seco	2,5	95,6	<0,5	0,7

TRR: Tiempo de retención relativo

20 La cromatografía ultrarrápida en seco de la mezcla isomérica en bruto no permite la purificación de O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona. La razón E/Z antes y después de la cromatografía ultrarrápida en seco permanece en el intervalo de 30/70 a 40/60.

Además, tal enfoque debe considerarse en base a la escala a la que tiene que llevarse a cabo la operación. A una escala de 20 l, esta operación no sería un enfoque que ahorre tiempo.

25 **1.3 Evaluación hacia la cristalización de la forma Z pura a partir de la mezcla isomérica en bruto**

30 La primera parte de la evaluación hacia la cristalización de la O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona pura a partir de la mezcla en bruto de O-metiloxima de (3Z/E,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona fue buscar unas condiciones de solubilidad y de cristalización posible de la O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona pura. Los resultados de las pruebas de solubilidad/cristalización llevadas a cabo a una escala de 15 mg se notifican en la tabla II a continuación.

35 Tabla II: Datos de solubilidad cualitativos para O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona

Disolvente	Se disuelve en:	Comentario
heptanos	--	insoluble en 20 volúmenes
tolueno	2 volúmenes en frío	
DIPE	40 volúmenes en caliente	
THF	4 volúmenes en frío	
tBuOH	6 volúmenes en caliente	
MIBK	4 volúmenes en caliente	

IPA	4 volúmenes en caliente	
-----	-------------------------	--

El examen de solubilidad inicial mostró que el isómero O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona puro es soluble en una gama de disolventes.

5 Basándose en los resultados anteriores, se examinó la cristalización mediante adición de anti-disolvente y los resultados se notifican en la tabla III. Se añadió el anti-disolvente a una disolución caliente a aproximadamente 40-50°C y se dejó enfriar hasta temperatura ambiente.

10 En particular, se añadió el agua (anti-disolvente) a una disolución caliente (40-50°C) de O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona en IPA hasta que se alcanzó la turbidez y se dejó enfriar la mezcla hasta temperatura ambiente.

Tabla III: Cristalización mediante adición de anti-disolvente

Disolvente	Antidisolvente	Comentario
tolueno, 20 volúmenes	heptanos, 39 volúmenes	precipitación de aceite
THF, 10 volúmenes	heptanos, 40 volúmenes	precipitación de aceite
tBuOH, 10 volúmenes	agua, 20 volúmenes	precipitación de aceite
MIBK, 10 volúmenes	heptanos, 40 volúmenes	precipitación de aceite
IPA, 20 volúmenes	agua, 160 volúmenes	sólido muy fino, precipitación de aceite al reposar
IPA, 8 volúmenes	agua, 18 volúmenes	sólido muy fino, precipitación de aceite al reposar
DMSO, 10 volúmenes	agua, 12 volúmenes	gel
NMP, 10 volúmenes	agua, 28 volúmenes	precipitación de aceite
MeOH, 10 volúmenes	agua, 10 volúmenes	precipitación de aceite
DMSO, 20 volúmenes	agua, 16 volúmenes	precipitación de aceite
acetona, 10 volúmenes	agua, 10 volúmenes	precipitación de aceite
DCM, 10 volúmenes	heptanos, 50 volúmenes	precipitación de aceite

15 Se aplicaron las condiciones de cristalización de IPA/agua a una mezcla isomérica en bruto. En primer lugar se concentró la disolución en tolueno hasta sequedad antes de la disolución en IPA (8 volúmenes) y la adición de agua (18 volúmenes). Desafortunadamente, esto dio como resultado una separación de mezcla de material como aceite.

20 En otro experimento, se añadió el antidisolvente a una disolución de O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona en bruto (pureza del 90,4% de área, contenía el 0,5% p/p de tolueno y el 3,7% p/p de THF) a temperatura ambiente hasta que se alcanzó la turbidez y se dejó reposar la mezcla a temperatura ambiente (tabla IV).

25 Tabla IV: Cristalización mediante adición de agua a 18-22°C

Disolvente	Antidisolvente	Comentario
MeOH, 5 volúmenes	agua, 3 volúmenes	precipitación de aceite
DMSO, 5 volúmenes	agua, 3 volúmenes	precipitación de aceite

30 En este punto de la investigación, no se han identificado condiciones adecuadas de cristalización de la O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona pura o que permitan el aislamiento de sólido que contenga O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona.

35 Se llevaron a cabo intentos adicionales de cristalización usando mezcla isomérica en bruto de O-metiloxima de (3Z/E,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona. En todos los casos, el volumen de disolventes era menor que lo que se usó anteriormente y se basó sólo en un único disolvente. El material en bruto (razón E/Z de 33:67 y pureza (E+Z) del 79,52% de área) usado para esta cristalización se concentró hasta obtener una espuma (tabla V).

Tabla V: cristalización a partir de un único disolvente a un volumen menor

Material	Disolvente	Envejecimiento en congelador	Envejecimiento en nevera
"Z puro"	Acetato de etilo, 1,8 volúmenes	Cristaliza, vuelve a disolverse a medida que se calienta	Permanece en disolución, con y sin sembrado tras 2 días.
Bruto		No cristaliza con o sin sembrado.	n/a
"Z puro"	Dietil éter, 2,3 volúmenes	Al añadir éter a 18-22°C comienza a disolverse, después vuelve a precipitar. Recuperación del 70%. Usado	n/a

		para sembrar.	
Bruto		Aceites Vuelve a disolverse a medida que se calienta	Cristaliza, recuperación del 41%, razón E/Z de 40/60, pureza del 85,4% de área. (Aguas madre, razón E/Z de 20/80, pureza del 62,1% de área). No se usan simientes.
“Z puro”	TBME, 2,3 volúmenes	Aceites Vuelve a disolverse a medida que se calienta	Permanece en disolución, con y sin sembrado tras 2 días.
Bruto		Aceites Vuelve a disolverse a medida que se calienta	Permanece en disolución, con y sin sembrado tras 2 días.

5 La cristalización usando acetato de etilo seguido por envejecimiento en un congelador durante la noche proporcionó cristalización usando el material de O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona pura, pero volvió a disolverse rápidamente a medida que se calentó la muestra. No se observaron cristales usando material en bruto en acetato de etilo, ni siquiera cuando se añadieron simientes.

10 La cristalización usando dietil éter seguido por envejecimiento en una nevera proporcionó cristalización usando el material de O-metiloxima de (3Z/E,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona en bruto. Se recogió el sólido con una recuperación del 41%. Desafortunadamente, el sólido recogido tenía una razón E/Z ligeramente peor que el material introducido y una pureza química ligeramente superior.

TBME como disolvente tanto para Z puro como para material en bruto produjo producción de aceite tras envejecimiento en congelador, y permaneció en disolución tras el envejecimiento en la nevera con y sin simientes.

15 No se han encontrado condiciones de cristalización adecuadas de la mezcla isomérica en bruto que permitan mejorar la razón Z/E y la pureza de la mezcla isomérica (E+Z).

#### 20 1.4 Forma sustancialmente pura de O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona

##### 20 1.4.1 Purificación a pequeña escala

25 El procedimiento de aislamiento en forma sustancialmente pura de O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona se realizó mediante cromatografía usando un sistema Biotage (Biotage AB, SE-751 03 Uppsala, Suecia) de la mezcla isomérica en bruto aislada tras la reducción del éster de oxima (etapa 7 del ejemplo 1).

30 Se purificaron cinco lotes diferenciados (n.º 020, 180, 062, 068, 076) de la mezcla isomérica en bruto mediante cromatografía Biotage. Además, se usaron diferentes condiciones con respecto a los lotes n.º 068 y 076. Se realizó la purificación con una adición conocida del 5% p/p de éster metílico de oxima añadido (n.º 068), y con una columna Biotage sobrecargada (n.º 076).

35 Cada cromatografía se ejecutó usando cartuchos Biotage 40 M (40 g de sílice) que se habían lavado previamente con tolueno. Después se eluyó tolueno:MeOH (99:1 v/v) y se recogió en fracciones de 100 ml (volumen total de 4 l), seguido por un lavado de tolueno:MeOH (96:4 v/v).

40 Se analizaron las fracciones mediante CCF (eluyente: acetato de etilo) para determinar qué fracciones podían descartarse y qué fracciones contenían el isómero Z. Después se analizaron estas fracciones Z mediante HPLC. El criterio para pasar para una fracción era de >96% de isómero Z y <1,2% de isómero E.

45 Sorprendentemente, la purificación mediante cromatografía Biotage de diversos lotes fue muy eficaz ya que la forma sustancialmente pura de O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona se purifica al 99,4% (lotes n.º 020, n.º 062, n.º 068) y al 99,2% (lotes n.º 180, n.º 076). En particular, la cromatografía Biotage en presencia de éster de oxima elimina el éster de oxima al 5% p/p sin perjudicar a la recuperación o la calidad (lote n.º 068) y una sobrecarga del 25% de la columna Biotage no provoca una reducción del rendimiento o la calidad (lote n.º 076).

Tabla VI: eficacia de la cromatografía Biotage

N.º de lote	% de E/Z de entrada	% de E/Z de salida	rendimiento de isómero Z
020		Fracciones de Z puro:	

	3,0 g pureza del 85,7% de área % de E/Z: 30,5/69,5	1,0 g pureza del 98,8% de área % de E/Z: 0,6/99,4	33%
180	2,0 g pureza del 92,0% de área % de E/Z: 32,8/67,2	Fraciones de Z puro 0,9 g pureza del 99,6% de área % de E/Z: 0,8/99,2	45%
062	3,0 g pureza del 83,5% de área % de E/Z: 32,7/67,3	Fraciones de Z puro 1,3 g pureza del 99,8% de área % de E/Z: 0,6/99,4  Mezcla: 1,2 g pureza del 91,0% de área % de E/Z: 69,6/30,4	43%  11%
068	3,0 g con adición conocida del ~5% de éster pureza del ~78% de área % de E/Z: 32,7/67,3	Fraciones de Z puro: 1,2 g pureza del 99,8% de área % de E/Z: 0,6/99,4  Mezcla: 0,6 g	40%  14%
		pureza del 98,8% de área % de E/Z: 27,9/72,1  Fraciones de E puro: 1,1 g pureza del 70,7% de área % de E/Z: 98,7/1,3 (19,3% de éster)	N/A
076	3,8 g pureza del 83,5% de área % de E/Z: 32,7/67,3	Fraciones de Z puro 1,4 g pureza del 99,8% de área % de E/Z: 0,8/99,2  Mezcla: 1,8 g pureza del 95,0% de área % de E/Z: 63,6/36,4	37%  17%

#### 1.4.2 Purificación a gran escala

5 Se cargaron diversos lotes de O-metiloxima de (3Z/E,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona en bruto (0,392 kg, 1,16 mol, 1,0 en peso) en una unidad Biotage 150L SIM como disolución aproximadamente al 50% p/p en tolueno y se purificaron usando metanol al 1% en tolueno (150 l) seguido por metanol al 2% en tolueno (50 l), tamaño de fracción de 5,0 l. Se analizaron las fracciones recogidas mediante análisis por CCF<sup>15</sup> y HPLC, según fuera apropiado. Se combinaron las fracciones que se consideró que contenían O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona limpia (criterios: isómero Z ≥96,00% de área, isómero E ≤1,20% de área) y se concentraron a vacío a de 40 a 45°C. Se añadió etanol absoluto (2x 2 l) al residuo y se concentró la disolución a vacío a de 40 a 45°C hasta que pudo manipularse el sólido espumoso. Se obtuvo el producto deseado, O-metiloxima de (3Z,5S)-1-[(bifenil-4-il-carbonil)-5-hidroximetil]pirrolidin-3-ona (0,089 kg, 22,7% p/p, <sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>) que concuerda con la estructura, el 99,3% de área mediante HPLC, razón Z/E de 98,4:0,9) como un sólido de blanquecino a color marrón claro.

15 Tabla VII: Resumen de la purificación de diferentes lotes de O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona en forma sustancialmente pura.

N.º de lote	Entrada (kg)	Salida (kg)	Rendimiento (% p/p)	% de forma Z (% de área)	% de forma E (% de área)
12	0,392	0,089	22,8	98,65	0,85
116	0,392	0,114	29	98,34	0,89
120	0,441	0,081	18,4	97,90	1,81
122	0,380	0,094	24,3	98,52	1,14
124	0,387	0,096	25,3	98,89	0,73

126	0,390	0,132	33,8	98,40	0,95
128	0,526	0,010	2	98,20	0,83
130	0,453	0,086	19	98,46	1,23
132	0,440	0,082	19,3	98,86	0,85
134	0,39	0,144	36,9	98,73	0,96
138	0,273	0,098	35,9	98,92	0,66
140	0,463	0,059	13,1	98,52	1,13
142	0,462	0,084	18,4	99,37	0,48
144	0,442	0,126	29	99,1	0,68
146	0,409	0,135	33,5	99,21	0,46
148	0,460	0,107	23,8	99,13	0,65
150	0,409	0,071	18	98,92	0,66
152	0,392	0,054	14,3	98,82	0,76
156	0,445	0,039	8,8	98,64	0,87
158	0,392	0,06	15,3	98,73	0,63
162	0,435	0,150	34,5	98,94	0,79
164	0,434	0,192	44,2	99,21	0,58
166	0,415	0,074	17,8	98,79	0,73
174	0,518	0,108	20,8	99,11	0,64
176	0,342	0,072	21	98,88	0,77
178	0,415	0,074	17,8	99,07	0,71
180	0,353	0,174	49,3	99,03	0,82
182	0,270	0,178	65,9	99,10	0,53

Se combinaron lotes apropiados de O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona (2,713 kg, 1,0 en peso) aislados a partir de la cromatografía Biotage y se disolvieron en etanol absoluto (5,16 l, 2,0 volúmenes) a de 15 a 25°C, se aclararon mediante filtración a través de papel de microfibras de vidrio y se aplicó un lavado de etanol absoluto (0,50 l, 0,2 volúmenes) al filtro. Se concentraron los filtrados combinados en porciones a vacío a de 40 a 45°C. Se transfirió lo resultante a bandejas de secado y se secaron a vacío a 30°C durante 24 horas. Después se aumentó de manera incremental la temperatura del horno desde 30 hasta 40°C a lo largo de 80 horas. Se determinó el nivel de disolvente residual mediante análisis por <sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>) y cuando se encontró que era <1,0% p/p se hizo pasar el sólido a través de un tamiz de 500 μm de abertura. Se devolvió el sólido al horno y se secó a de 40 a 42°C hasta que el nivel de disolvente era ≤0,40% p/p para proporcionar O-metiloxima de (3Z,5S)-1-[(bifenil-4-ilcarbonil)-5-hidroxi-metil]-pirrolidin-3-ona (2,633 kg, 97,1% p/p, <sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>) que concuerda con la estructura, 98,65% de área mediante HPLC).

A continuación se resume el procedimiento de combinación:

Entrada: 2,713 kg

Salida: 2,633 kg

Rendimiento: 97,1% p/p

Ejemplo 2: O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona que se une a OT-R y el receptor de vasopresina V1a

*Unión a OT-R y el receptor de vasopresina V1a*

Se midió la unión por competencia al receptor de oxitocina humano *in vitro* usando un ensayo de proximidad de centelleo.

Este ensayo permite determinar la afinidad de los compuestos de prueba por OT-R. Se suspendieron membranas de HEK293EBNA (células que expresan OT-R) en tampón que contenía Tris-HCl 50 mM, pH 7,4, MgCl<sub>2</sub> 5 mM y BSA al 0,1% (p/v). Se mezclaron las membranas (2-4 μg) con 0,1 mg de perlas SPA recubiertas con aglutinina de germen de trigo (perlas de polietilenimina WGA-PVT de Amersham) y 0,2 nM de la [125I]-OVTA radiomarcada (siendo OVTA ornitina vasoactiva, un análogo de OT para experimentos de unión competitiva). Se determinó la unión no específica en presencia de oxitocina 1 μM. El volumen de ensayo total fue de 100 μl. Se incubaron las placas (Corning® NBS) a temperatura ambiente durante 30 min y se contaron en un contador de centelleo para placas Mibrobeta®. La unión competitiva se realizó en presencia de compuestos de la presente invención a las siguientes concentraciones: 30 μM, 10 μM, 1 μM, 300 nM, 100 nM, 10 nM, 1 nM, 100 pM, 10 pM. Se analizaron los datos de la unión competitiva utilizando el programa de ajuste de curvas, no lineal, iterativo, "Prism" (GraphPad Software, Inc).

Se evaluó la capacidad de los compuestos de la presente invención para inhibir la unión de I-OVTA al receptor de

OT usando el ensayo biológico *in vitro* descrito anteriormente. La afinidad de unión de los compuestos de prueba a partir de los ejemplos anteriores se expresa mediante la constante de inhibición ( $K_i$ ; nM). A partir de estos valores, puede deducirse que dichos compuestos de prueba según la presente invención no muestran unión significativa al receptor de oxitocina.

La constante de inhibición  $K_i$  de O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona para el receptor de oxitocina es  $K_i$  (nM) = 52 nM y para el receptor de vasopresina V1a es  $K_i$  (nM) = 120 nM. Por tanto, O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona es selectiva para el receptor de oxitocina.

Ejemplo 3: O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona es un antagonista de OT-R

Se midió la inhibición de la movilización de  $Ca^{2+}$  inducida por oxitocina en células HEK293EBNA transfectadas con OT-R mediante FLIPR (lector de placas con obtención de imágenes fluorimétricas).

Este ensayo permite la medición de la inhibición de la movilización de calcio mediada por OT/OT-R por el compuesto O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona.

FLIPR® es un dispositivo de obtención de imágenes fluorimétricas que utiliza un láser (láser de ion argón) para la iluminación y lectura simultáneas (cámara de CCD enfriada) de cada pocillo de una placa de 96 pocillos, permitiendo de ese modo mediciones rápidas en un gran número de muestras.

Preparación de las placas: Las placas de FLIPR se recubrieron previamente con PLL (poli-L-lisina) 10  $\mu$ g/ml + gelatina al 0,1% para unir células HEK293EBNA (células de riñón embrionario humano que expresan OT-R) y se incubaron durante 30 minutos hasta 2 días a 37°C. Las células se sembraron en placas de 96 pocillos (60.000 células/pocillo).

Marcaje con Fluo-4: Se disolvieron 50  $\mu$ g de Fluo-4 (colorante fluorescente sensible a  $Ca^{2+}$ ) en 20  $\mu$ l de ácido plurónico (al 20% en DMSO). A continuación se diluyó el Fluo-4 disuelto en 10 ml de medio de cultivo DMEM (medio esencial mínimo de Dulbecco)-F12. Se lavaron las placas una vez con medio DMEM-F12. Se añadieron 100  $\mu$ l del medio DMEM-F12 que contenía Fluo-4 a las células HEK que se incubaron durante 1,5-2 h en este medio fluorescente. Fluo-4 se capta por el citoplasma de las células.

Tampón: NaCl 145 mM, KCl 5 mM,  $MgCl_2$  1 mM, Hepes 10 mM, glucosa 10 mM, EGTA (ácido etilen-bis-oxietileno-nitrilo-tetraacético). El pH se ajustó a 7,4.

Rendimiento del ensayo: Se preparó un mínimo de 80  $\mu$ l/pocillo de los compuestos O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona (5x) en el tampón anterior (1x) (placas de 96 pocillos). Se añadió el compuesto O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona a las placas de 96 pocillos a diferentes concentraciones (30  $\mu$ M, 10  $\mu$ M, 1  $\mu$ M, 300 nM, 100 nM, 10 nM, 1 nM, 100 pM, 10 pM). Se añadió OT a una concentración de 40 nM.

A continuación se mide la fluorescencia relativa de Fluo-4 ( $\lambda_{ex}$  = 488 nm,  $\lambda_{em}$  = 590 nm) mediante el FLIPR en presencia o ausencia de los compuestos O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona. Al ser la fluorescencia del marcador sensible a la cantidad de  $Ca^{2+}$ , pueden detectarse los movimientos de  $Ca^{2+}$ . A continuación, puede determinarse la capacidad del compuesto O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona para antagonizar la movilización de  $Ca^{2+}$  intracelular inducida por oxitocina mediada por el receptor de oxitocina.

El compuesto de fórmula O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona inhibe la actividad de la oxitocina sobre OT-R con una  $CI_{50}$  = 81 nM.

Ejemplo 4: Inhibición de las contracciones uterinas espontáneas en rata gestante en periodo avanzado anestesiada

#### 4.1 Protocolo experimental

Se anestesiaron ratas hembra Sprague Dawley CD (SD) BR (Charles River, Calco, Italia) gestantes en periodo avanzado (certificadas en los días 19-21 de gestación), que pesaban 350-400 g con uretano (1,05 g/kg, i.p.) y se colocaron sobre una mesa de operaciones homeotérmica. Se practicó una incisión en la línea media a nivel de hipogastrio, se expuso un cuerno uterino gestante y se cerró su extremo tubárico (cerca del ovario) mediante una ligadura con seda quirúrgica.

En relación con el feto cerca del ovario, se practicó una incisión en la pared del cuerno uterino teniendo cuidado de no lesionar la placenta adyacente y se insertó un tubo PE240 con un balón de látex (9 mm de longitud cuando está

vacío, capacidad 0,1 ml; Radnoti, Monrovia, CA, EE.UU.) en la parte superior en la luz y se sujetó a la pared uterina con seda quirúrgica. Tras llenar la cavidad interna del balón de látex con 0,1 ml de solución salina fisiológica estéril, se conectó el catéter a un sistema de amplificación/registro (MacLab, ADInstruments Pty Ltd, Castle Hill, Australia) a través de un transductor de presión P231D Gould-Statham. Se aisló una vena yugular y se canuló con una cánula de polietileno PE60 para la administración i.v. Tras la preparación quirúrgica, se observó un periodo de estabilización de 30 min y luego se evaluaron los efectos de aumentar las dosis de los compuestos de la presente invención (administrados como infusión i.v. de 10 min, bolo i.v. o v.o.) midiendo las contracciones uterinas resultantes.

Para la administración i.v. (infusión o bolo), se cuantificó la actividad contráctil uterina calculando el AUC durante el periodo de inyección de 10 min. Se calculó la variación en porcentaje de los valores de AUC en relación con la respuesta uterina espontánea observada tras cada administración de compuesto administración en comparación con el valor registrado antes de la administración de la primera dosis (valor basal). Se evaluó el efecto de los compuestos de prueba de la presente invención comparando los valores de presión uterina luminal antes y después del tratamiento.

Para la administración oral, se aplicó el mismo procedimiento de cálculo en diferentes puntos de tiempo tras el tratamiento. Se determinaron las diferencias estadísticas entre grupos de tratamiento en cada punto de tiempo usando un ANOVA de un factor seguido por una prueba de Tukey.

#### 4.2 Resultados

Las figuras 1A y B describen los efectos de respuesta a la dosis del isómero Z y el isómero E administrados por vía oral sobre la inhibición de las contracciones uterinas espontáneas en ratas gestantes anestesiadas cerca del término (días de gestación 19-21). Los datos se muestran como medias  $\pm$  E.E. de  $n=6-8$  animales por grupo. El eje y representa las contracciones uterinas como el % del valor en comparación con el conjunto antes de la dosis al 100%. El eje x representa el tiempo tras la dosis en minutos. Las contracciones se registraron de manera continua y se integró el área bajo la curva (AUC) a lo largo de intervalos de tiempo de 10 min.

Los resultados presentados en la figura 1A demuestran que O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona (forma Z) puede inhibir rápidamente las contracciones uterinas espontáneas en rata gestante en periodo avanzado anestesiada a diversas dosis (10, 30 ó 60 mg/kg) en comparación con el vehículo control NP3S (N-metilpirrolidona al 5%, polietilenglicol 200 al 25%, polietilenglicol 400 al 30%, polietilenglicol al 20%, solución salina al 20%). Puede observarse una inhibición de las contracciones uterinas del 15% de 5 a 15 min tras la administración de la forma Z sustancialmente pura. Se observa inhibición eficaz del 42% 170-180 minutos tras la administración de dicho compuesto.

En cambio, no se ha observado inhibición de las contracciones uterinas con O-metiloxima de (3E,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona a diversas dosis (10, 30 ó 60 mg/kg, forma E) en cualquier momento durante la observación de 170-180 minutos (figura 1B).

Sorprendentemente, la presente invención muestra que la forma Z sustancialmente pura que tiene la fórmula O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona inhibe las contracciones uterinas mientras que la forma E sustancialmente pura no tiene eficacia. Por tanto, la presente invención se refiere ventajosamente a compuestos biológicamente activos de fórmula O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona y/o un metabolito de los mismos en forma sustancialmente pura que pueden administrarse a dosificación inferior, en comparación con dichos compuestos proporcionados en la mezcla isomérica.

#### Ejemplo 5: Estabilidad *in vivo* de O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona

Se estudió la interconversión isomérica de [ $^{14}$ C]-O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona tras dosis únicas orales e intravenosas (30 mg/kg nominal, 25  $\mu$ Ci/rata) a ocho ratas hembra sanas ( $n = 4$  para cada vía de dosis).

Los animales usados en este estudio fueron ratas albinas Sprague-Dawley, CrI: CD@BR. Todos los animales los facilitó Charles River UK Ltd (Margate, Kent, RU). Los animales estaban en el intervalo de peso de 200 - 260 g y tenían aproximadamente 2 meses de edad. Se les dio a las ratas un número de identidad único y se identificaron mediante marcas en la cola únicas más su ubicación en la jaula.

Los grupos de dosis fueron los siguientes: 4 hembras a las que se les administró una dosis oral y 4 hembras a las que se les administró una dosis intravenosa.

Se prepararon formulaciones de dosificación oral e intravenosa de [ $^{14}$ C]-O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona por separado en cada fase de dosis a un nivel de dosis objetivo de 30 mg/kg, y a una concentración radiactiva de aproximadamente 25  $\mu$ Ci/rata. Se prepararon las formulaciones de

dosis en una matriz apropiada; las dosis intravenosas se prepararon en NP3S, mientras que las dosis orales se prepararon en Labrasol:agua (1:1 v/v).

5 El análisis cromatográfico usando HPLC indicó que los componentes radiactivos que mostraban co-cromatografía con el isómero E de fórmula O-metiloxima de (3E,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona no estaban presentes en las formulaciones de dosis oral o intravenosa en la administración antes o después de la dosis. Por tanto, no hubo interconversión detectable de O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona en O-metiloxima de (3E,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona durante la preparación o la administración de la dosis. No hubo evidencia de que [<sup>14</sup>C]-isómero E de fórmula O-metiloxima de (3E,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona  
10 estuviera presente en plasma recogido hasta 6 horas tras una administración oral o intravenosa de [<sup>14</sup>C]-O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona.

15 Por tanto, usando los métodos descritos, [<sup>14</sup>C]-O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona no experimenta interconversión isomérica detectable *in vivo* tras la administración de una dosis oral o intravenosa.

## REIVINDICACIONES

- 5 1. Compuesto de fórmula O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona.
2. Compuesto según la reivindicación 1, en el que dicho compuesto se proporciona en forma sustancialmente pura.
- 10 3. Compuesto según la reivindicación 2, en el que la pureza de la forma sustancialmente pura está al menos en el intervalo del 85% al 99,9%.
4. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que dicho compuesto es un antagonista del receptor de oxitocina.
- 15 5. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que dicho compuesto es un antagonista del receptor de vasopresina V1a.
- 20 6. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que dicho compuesto inhibe las contracciones uterinas.
7. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que dicho compuesto se administra a un sujeto que lo necesita en una única dosis de 50 mg a 900 mg.
- 25 8. Compuesto según la reivindicación 7, en el que dicha única dosis es preferiblemente de 100 mg a 600 mg.
9. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que dicho compuesto se administra de manera concomitante o separada con al menos un compuesto seleccionado del grupo que comprende bloqueantes de los canales de calcio, sulfato de magnesio, moduladores de prostaglandina selectivos, agonistas beta-2-adrenérgicos, agonistas de receptores beta-3-adrenérgicos y/o corticosteroides.
- 30 10. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que dicho compuesto es estable en el plasma.
- 35 11. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el sujeto que lo necesita es un mamífero, preferiblemente un ser humano.
12. Compuesto según las reivindicaciones 1-11, para su uso como medicamento.
- 40 13. Compuesto según las reivindicaciones 1-11, para su uso en el tratamiento y/o la prevención, en un sujeto que lo necesita, de trastornos seleccionados del grupo que comprende trabajo de parto prematuro, parto prematuro, dismenorrea, eyaculación precoz, disfunción sexual, endometriosis, fallo de implantación del embrión debido a contracciones uterinas, esterilidad, hiperplasia prostática benigna, trastornos neuropsiquiátricos, autismo, trastornos de la conducta social, estrés psicosocial y/o trastornos cardiovasculares.
- 45 14. Composición farmacéutica que comprende un compuesto según las reivindicaciones 1-11 y un portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.
- 50 15. Composición farmacéutica según la reivindicación 14, en la que la administración se realiza por vía oral, vaginal o intravenosa.
- 55 16. Procedimiento para preparar y aislar el compuesto según las reivindicaciones 1-11 en forma sustancialmente pura que comprende las etapas de:
  - a) cargar una mezcla isomérica en bruto que comprende un compuesto de fórmula O-metiloxima de (3Z,5S)-5-(hidroximetil)-1-[(2'-metil-1,1'-bifenil-4-il)carbonil]pirrolidin-3-ona, y/o un metabolito activo del mismo, en una columna de cromatografía en gel de sílice;
  - 60 b) purificar con alcohol al 1% en disolvente orgánico; y
  - c) purificar con alcohol al 2% en disolvente orgánico.
- 65 17. Compuesto según las reivindicaciones 1-11, para su uso en tecnología de reproducción asistida.
18. Compuesto según las reivindicaciones 1-11, para su uso en el tratamiento de la esterilidad mediante el

método de fecundación *in vitro*-transferencia de embriones (IVF-ET).

- 5
19. Compuesto según las reivindicaciones 1-11, para su uso en la reducción del fallo de implantación del embrión debido a contracciones uterinas.
20. Compuesto según las reivindicaciones 1-11, para su uso en la reducción de las contracciones que se producen durante la transferencia de embriones.
- 10
21. Compuesto según las reivindicaciones 1-11, para su uso en el tratamiento y/o la prevención de una enfermedad en relación con contractilidad vascular inducida por oxitocina, contractilidad vascular inducida por vasopresina, contractilidad muscular inducida por oxitocina, contractilidad muscular inducida por vasopresina.

Fig.1A

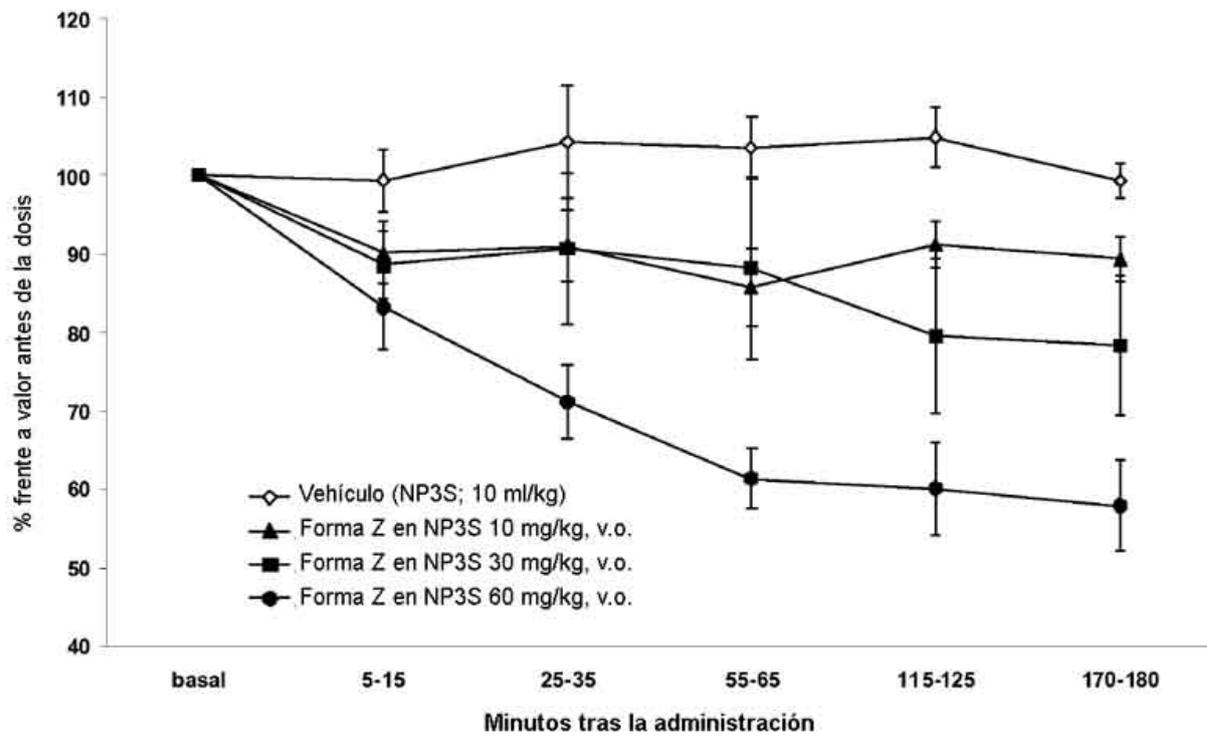


Fig. 1B

