CAVELIER
ABOGADOS

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 10-026475- -00006-0000
Fecha: 2013-03-06 16:22:04 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 523 RESPUESTA Folios: 296

Señor Director
DIRECCION DE NUEVAS CREACIONES
Superintendencia de Industria y Comercio
E. S. D.

Trámite : 011
Evento : 378
Actuación : 444

Referencia : Expediente **No. 10.026.475**
Asunto : Solicitud de Patente para: **DERIVADO DE PIRROLIDIN-2-ONA COMO MODULADOTES DEL RECEPTOR DE ANDRÓGENO**
Solicitante : **TAKEDA PHARMACEUTICAL COMPANY LIMITED**
Fecha de Solicitud : 05 de marzo de 2010

1. Yo, Luz Clemencia DE PÁEZ, en mí condición de apoderada de la sociedad solicitante de la patente de la referencia, me refiero al oficio No. **19650** notificado por fijación en lista del 16 de octubre de 2012.

2. Mediante Memorial se solicitó plazo adicional de treinta (30) días el 24 de enero de 2013, para responder a la Acción Oficial.

3. Mediante oficio No. **19650** se puso en conocimiento del solicitante el informe que contiene las observaciones hechas por su Despacho sobre la presente solicitud de patente. Las observaciones realizadas en el oficio son las siguientes:

3.1 <u>Excepción a la Patentabilidad</u>

Las reivindicaciones 21 y 22 están relacionadas con un método de tratamiento, el cual no es patentable de acuerdo con el artículo 20.

3.2 De la solicitud de patente

3.2.1 Reivindicaciones

De manera resumida el Examinador ha expuesto lo siguiente:

- La reivindicación 1 no es clara ni concisa porque en los radicales R1 a R9 reclama "grupos a través de un átomo", los cual son ambiguos y no definen de manera inequívoca los sustituyentes de los compuestos reclamados.
- Las reivindicaciones 1 y 3 a 5 no son claras porque tienen el término "opcionalmente", que es impreciso.
- La reivindicación 1 no es concisa porque el radical R8 es cicloalquilo, el cual es ambiguo.
- Se sugiere al solicitante presentar una generalización razonable en la definición de los radicales más representativos de la formula (I)

3.3 Unidad de Invención

La solicitud no cumple con el requerimiento de unidad de invención porque se refiere a 2 grupos inventivos.

Se le sugiere al solicitante restringir la materia a patentar en un solo concepto común inventivo o presentar las solicitudes divisionales correspondientes a cada grupo inventivo de interés.

3.4 Análisis de patentabilidad

3.4.1 Nivel Inventivo

Para la evaluación de este requerimiento se emplean los documentos D1: WO2006124447 y D2: WO2005090282. El Examinador afirma que las reivindicaciones 1 a 16 carecen de novedad a la luz de las enseñanzas de los documentos indicados.

4. Respuesta a las objeciones

De este modo y con el objeto de atender las objeciones arriba mencionadas, se desea presentar las siguientes modificaciones, aclaraciones y argumentos:

4.1 Modificación de una solicitud en trámite

De acuerdo con el artículo 34 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, donde se establece que la modificación de una solicitud es posible en cualquier momento del trámite mientras no implique una ampliación de la solicitud inicial, me permito presentar un nuevo pliego reivindicatorio conformado por 1 reivindicación.

Específicamente, la modificación realizada al capítulo reivindicatorio es que se ha limitado la materia al compuesto de la antigua reivindicación 6.

Así entonces, consideramos que las limitaciones efectuadas son suficientes para aclarar la materia reivindicada de manera fácilmente comprensible y las mismas deben tenerse por sustentadas en la descripción, de acuerdo con el conocimiento de una persona medianamente versada en la materia.

En consecuencia, se han atendido las recomendaciones del Examinador con respecto a las objeciones de excepción, claridad y unidad inventiva de la solicitud. Por lo tanto, se solicita atentamente tener en cuenta este nuevo pliego reivindicatorio para el análisis de patentabilidad de la solicitud.

4.2 De acuerdo con el artículo 36 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, el solicitante podrá en cualquier momento del trámite dividir su solicitud en dos o más solicitudes fraccionarias. En consecuencia, nos permitimos presentar junto con el presente memorial una solicitud divisional donde su capítulo reivindicatorio está conformado por 22 reivindicaciones.

4.3 Argumentos a favor de la patentabilidad de la presente solicitud

A pesar de que las modificaciones al pliego reivindicatorio son suficientes para considerar la presente invención novedosa e inventiva, con el fin de demostrar que cumple con el requerimiento de nivel inventivo, se pone de presente lo siguiente:

En primer lugar, en la Acción Oficial 19650, el Examinador objeta el nivel inventivo del compuesto de la reivindicación 4, citando la "posición 2" del anillo de pirrolidina de los compuestos revelados en el arte previo. Con el fin de estar alineados a la numeración del compuesto de esta invención, citamos a la "posición 5" o la posición 5 del anillo de pirrolidina en los siguientes argumentos, en vez de la "posición 2".

En virtud de las modificaciones mencionadas arriba, el fundamento de la objeción del Examinador, a saber, que el compuesto de la presente invención puede ser concebido simplemente mediante la introducción de un grupo oxo a la posición 5 del anillo de pirrolidina de los compuestos revelados en el arte previo ha sido eliminado. Por consiguiente, la presente invención debe ser inventiva sobre el arte previo que cita el Examinador. Adicionalmente, en respuesta a las recomendaciones del Examinador, el Solicitante ha hecho un esfuerzo para suministrar pruebas técnicas para distinguir el compuesto de la presente invención de aquellos del arte previo. El Solicitante considera que el nivel inventivo de la presente invención ha sido comprobado gracias a los datos comparativos suministrados en los siguientes argumentos.

WO2006/124447 (en adelante "D1") no describe ni sugiere un compuesto que contenga un grupo oxo en la posición 5 (R4 de la fórmula I de la reivindicación 1) del anillo de pirrolidina del mismo, sino que solo describe compuestos que contienen un sustituyente seleccionado entre un arilo, un heterociclo, o un heterociclo benzofusionado en la posición 5 del anillo de pirrolidina del mismo. Adicionalmente, D1 no describe ni sugiere que la actividad farmacológica cambiaría con la introducción de un grupo oxo en la posición 5 del anillo de pirrolidina de los compuestos revelados en D1.

Así, ninguna de las descripciones en D1 puede ser una motivación para suministrar un grupo carbonilo a la posición 5 del anillo de pirrolidina como un elemento esencial para alcanzar la actividad de moduladores selectivos del receptor de andrógeno.

WO2005/090282 (en adelante "D2") revela un gran número de compuestos que comprenden una acción de moduladores selectivos del receptor de andrógeno, pero la mayoría de estos son irrelevantes y únicamente los compuestos de los Ejemplos 4 y 5 comprenden un grupo oxo en la posición 5 del anillo de pirrolidina del mismo (es decir, los compuestos en donde "R6a y R7a forman un carbonilo" como ha señalado el Examinador en la tabla 4 del oficio 19650). Sin embargo, los compuestos de los Ejemplos 4 y 5 no tienen un grupo hidroxi en la posición 3 ni un grupo etilo en la posición 2 del anillo de pirrolidina del mismo, e incluso carecen de un grupo ciano y de un grupo trifluorometil en el grupo fenilo del mismo. Adicionalmente, en D2, ninguno de los compuestos de los Ejemplos se revela con datos farmacológicos (es decir, datos de una actividad de moduladores selectivos del receptor de andrógeno).

Por consiguiente, dichas descripciones generales que revelan un alto número de compuestos sin datos farmacológicos nunca llevarían a una persona experta a seleccionar alguno de los compuestos de los Ejemplos 4 y 5 que comprenden un grupo carbonilo en la posición 5 como un modulador receptor de andrógeno y a combinarlo con un compuesto en D1.

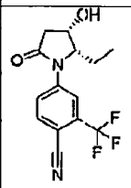
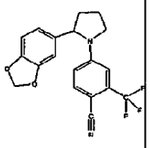
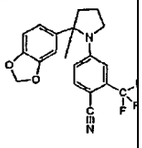
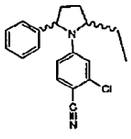
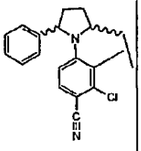
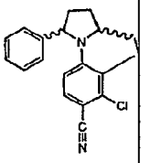
Por otro lado, ninguna de las descripciones en D1 o D2 serían una motivación para que una persona experta seleccionase de manera activa esta combinación particular de un grupo etilo y un grupo hidroxilo para la posición 2 y la posición 3 de la fracción del anillo de pirrolidina respectivamente de numerosas combinaciones de posibles substituyentes, además de la introducción de un grupo oxo a la posición 5 de la fracción del anillo de pirrolidina, ya que ninguno de los compuestos específicos que contienen un grupo hidroxi en la posición 3 así como un grupo etilo en la posición 2 del anillo de pirrolidina se revela en los Ejemplos de D1 o D2.

Sin embargo, el Examinador señala que "no se evidencia que por el hecho de tener un grupo funcional carbonilo en la posición 2 [posición 5] del anillo de pirrolidina, se tenga un efecto técnico inesperado". Al respecto, el Solicitante suministra los siguientes datos comparativos para probar los efectos técnicos inesperados de la presente invención sobre los compuestos de D1 y D2:

Datos comparativos con respecto a D1:

Aunque hay posiblemente numerosos compuestos en D1, pero teniendo en cuenta el cuadro sinóptico proporcionado por el Examinador, el Solicitante considera que una comparación con solo cinco de los compuestos es relevante. Los cinco compuestos son los de los Ejemplos 19, 20, 22, 23 y 31, todos de los cuales comparten dos de los substituyentes con el compuesto de la presente invención.

Debido a que en el estado de la técnica a la fecha de prioridad de la presente solicitud se ha conocido que la lipofilicidad de un agente farmacéutico es una propiedad física como un índice para la estabilidad metabólica y la expresión de toxicidad, el Solicitante suministra la siguiente tabla comparativa que muestra datos de ClogP (un valor que muestra la lipofilicidad de un compuesto, calculada por ChemDraw Pro 12.0 con base en su estructura química) del compuesto de la presente invención y los cinco compuestos en D1:

	Compuesto de la presente invención	D1: Ejemplo 19	D1: Ejemplo 20	D1: Ejemplo 22	D1: Ejemplo 23	D1: Ejemplo 31
Estructura química						
ClogP	2.27	5.08	5.3	5.74	6.23	4.44

En términos generales, entre mayor sea el valor ClogP de un compuesto, mayor es la lipofilicidad, y se considera que dicho compuesto tiene una pobre solubilidad en agua. Por otro lado, en general, entre menor sea el valor ClogP de un compuesto, mayor es la estabilidad metabólica (ver, por ejemplo, Journal of Medicinal Chemistry, 2001, Vol. 44, No. 9, 1324 (Adjunto)) y menor es la toxicidad. Dicho compuesto tiene una propiedad superior en formulación de fármacos y, por tanto, puede ser aplicado a varias formas de dosificación, tales como la solución parenteral y la tableta de disolución oral.

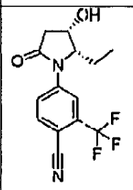
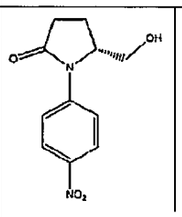
Estos valores de ClogP en la tabla muestran claramente que el compuesto de la presente invención es notablemente inferior en lipofilicidad comparado con los compuestos en D1 y superior como agente farmacéutico. De esta manera, la evidencia muestra que tener un grupo carbonilo en la posición 5 del anillo de pirrolidina tiene un efecto técnico inesperado.

Datos comparativos con respecto a D2:

Adicionalmente, entre los compuestos de los Ejemplos en D2, únicamente los compuestos de los Ejemplos 4 y 5 son los compuestos que contienen un grupo oxo en la posición 5 del anillo de pirrolidina del mismo; en otras palabras, los compuestos que contienen R6a y R7a formando un carbonilo, tal y como lo señala el Examinador. Sin embargo, el compuesto del Ejemplo 4 tiene un grupo hidroximetilo protegido (grupo terc-butildimetilsililoximetil) en la posición 2 del anillo de pirrolidina, lo que significa que el compuesto no muestra una actividad farmacológica in vitro debido a su pobre solubilidad en agua. Adicionalmente, cuando el compuesto del Ejemplo 4 se metaboliza in vivo, se convierte en el mismo compuesto del Ejemplo 5. Por consiguiente, no resulta muy significativo ensayar los dos compuestos para una comparación de la actividad farmacológica con el compuesto de la presente invención, y el Solicitante considera que una comparación con el compuesto del Ejemplo 5 es práctica.

El estado de la técnica a la fecha de prioridad de la presente solicitud muestra que el enfoque del área topológica de la superficie polar (tPSA) es un índice efectivo para predecir las propiedades de transporte de fármacos. El valor puede ser calculado por

medio de ChemDraw Pro 12.0 con base en su estructura química. Entre menor sea el valor del tPSA, mayor es la penetración de la barrera hematoencefálica. La siguiente tabla muestra los datos de tPSA del compuesto de la presente invención y el compuesto en D2:

	Copuesto de la presente invención	D2: Ejemplo 5
Estructura química		
tPSA	64.33	92.35

Siendo el valor de tPSA mucho menor que el compuesto en D2, tal y como muestra la anterior tabla, el compuesto de la presente invención es superior en penetración de la barrera hematoencefálica a comparación del compuesto de D2. Como resultado de dicha propiedad superior en transporte de fármacos, el compuesto de la presente invención es superior como agente farmacéutico para la profilaxis o el tratamiento de enfermedades como la depresión, disfunción eréctil, enfermedad de Alzheimer y similares (Descripción en inglés de la página 31, líneas 25-26), lo que también es demostrado por esta evidencia.

Por consiguiente, las pruebas demuestran que tener únicamente un grupo carbonilo en la posición 5 del anillo de pirrolidina no hace que el compuesto sea capaz de ejercer el efecto técnico deseado. En otras palabras, todos los sustituyentes que tiene el compuesto de la presente invención, es decir, la combinación particular de un grupo etilo y un grupo hidroxilo en la posición 2 y la posición 3 de la fracción del anillo de pirrolidina respectivamente, un grupo ciano y un grupo trifluorometil en el grupo fenil, y un grupo oxo en la posición 5 de la fracción del anillo de pirrolidina son esenciales para ejercer el efecto técnico deseado.

Con estas pruebas, es claro que el efecto ejercido por la presente invención enmendada es notablemente superior y va más allá de las expectativas basadas en D1 o D2.

Aunque el nivel inventivo de la presente invención ha sido comprobado, el Solicitante también aporta el siguiente conocimiento general común en el arte a la fecha de prioridad de la presente solicitud. A la fecha de prioridad de la presente solicitud, resulta difícil sintetizar un compuesto de pirrolidina tetrasustituida, como el compuesto de la presente invención, controlando al mismo tiempo su estereoquímica. En una situación en que no sea posible encontrar una ventaja de introducir un grupo carbonilo a la posición 5 del anillo de pirrolidina de la manera que se menciona arriba, incluso una persona con habilidades en el arte nunca habría concebido tratar de sintetizar el compuesto de pirrolidina tetrasustituida, es decir, el compuesto de la presente invención, sin tener una idea de cómo superar dicha dificultad en la síntesis. El Solicitante exige de manera respetuosa que el Examinador considere el anterior conocimiento general común en el arte, ya que la determinación del estado de la técnica de donde se seleccionaron D1 y D2 como los documentos que posiblemente afectan la patentabilidad de la presente invención tampoco fue apropiada en este aspecto.

A pesar de dicho estado de la técnica, los inventores de la presente invención han logrado sintetizar con éxito el compuesto de la presente invención a través de múltiples pasos, al mismo tiempo controlando la estereoquímica (ver los Ejemplos 81, 88 y el Ejemplo 59 de la Referencia). El compuesto de la presente invención obtenido luego de grandes esfuerzos por parte de los inventores puede ser administrado por distintas vías de administración parenteral, tales como la administración intravenosa o intramuscular y la instilación (ver página 35, líneas 1-5 del folleto PCT de WO2009/020234), ya demás tiene una baja toxicidad (ver página 34, líneas 18-23 del mismo) y tiene una acción de modulación selectiva de tejidos del receptor de andrógeno (ver página 31, líneas 31-34 del mismo).

Tal y como se explica anteriormente, el compuesto de la presente invención ejerce un efecto técnico inesperado debido a sus sustituyentes particulares,

adicionalmente a un grupo oxo en la posición 5 del anillo de pirrolidina, cosa que no es fácil de alcanzar, y por lo tanto, consideramos que la presente invención modificada es claramente más inventiva que D1 y D2.

De acuerdo con lo anterior y en virtud de los comentarios aquí expuestos, se determina que la presente invención es claramente novedosa e inventiva por encima del arte previo citado por el Examinador.

5. Conclusión

Con las modificaciones introducidas al pliego reivindicatorio y los argumentos de nivel inventivo acá presentados, se superan las objeciones formuladas por el Examinador en el oficio No. **19650.**

6. Puesto que se ha dado respuesta a todas las objeciones formuladas por el Examinador, se solicita atentamente proceder al otorgamiento de la solicitud de patente. En este sentido, respetuosamente recordamos al Examinador que la patente no podrá ser negada con base en objeciones diferentes a las expuestas en la acción oficial No. **19650**, toda vez que al no haber sido trasladadas a mí representada, dicha decisión violaría tanto el tenor literal del artículo 45 de la Decisión 486 como el derecho constitucional al debido proceso. De la misma manera, en el evento que como consecuencia del nuevo análisis de patentabilidad sobre el pliego reivindicatorio modificado, el Examinador llegue a la conclusión que solamente algunas de las reivindicaciones son patentables, respetuosamente solicitamos que se proceda al otorgamiento parcial del privilegio.

7. Anexos

- Nuevo pliego reivindicatorio conformado por 1 reivindicación.
- Formulario de modificaciones en solicitud pendiente.
- Tasa por concepto de presentación de solicitud divisional.
- Formulario de la solicitud divisional.
- Memoria descriptiva de la solicitud divisional.

- Pliego reivindicatorio de la solicitud divisional conformado por 22 reivindicaciones.
- Poder otorgado por la sociedad **TAKEDA PHARMACEUTICAL COMPANY LIMITED** a mi favor.
- Recibo por concepto de 12 reivindicaciones en exceso de las primeras 10.
- Journal of Medicinal Chemistry, 2001, Vol. 44, No. 9, 1324

Señor Director,

LUZ CLEMENCIA DE PÁEZ
C.C. 35.456.344 de Usaquén
T.P.A. No. 23.555

COLO-14656-0841-056-8
COLO-14656-0841-105-3
DGA\DGA\ID-237188\WPC14656
No. M-2013-237188\DGA

12

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

Espacio reservado para el adhesivo de radicación

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES
MODIFICACIONES Y/O CORRECCIONES

1. **Identificación del Tramite**

☐ **Error material** ☒ **Modificación a una Solicitud en trámite**

☒ Patente de Invención

☐ Patente de Modelo de Utilidad

☐ Registro de Diseño Industrial

☐ Esquema de Trazado de Circuitos Integrados

2. **Datos del solicitante**

Persona Natural ☐ Persona Jurídica ☒

TAKEDA PHARMACEUTICAL COMPANY LIMITED

Nombre o denominación / Nombre o razón social completa

Nombre representante legal

Tipo de empresa Micro ☐ Pequeña ☐ Mediana ☐ Otra ☐

Documento de identificación: ☐ C.C. ☐ C.E. ☐ NIT ☐ Otro Número_____

Nacionalidad/País de constitución	Dirección y domicilio del titular	Ciudad
Japón	1-1, Doshomachi 4-chome, Chuo-ku, Osaka-shi, Osaka 5410045	Osaka

Dirección electrónica	No. Fax	Número telefónico
clientes@cavelier.com	2 11 86 50	3 47 36 11

☐ **Autorizo expresamente a la Superintendencia de Industria y Comercio para que todas las comunicaciones sean enviadas a través de la dirección de correo electrónico**

3. **Datos del apoderado:**

Apellidos y Nombre	Documento de identificación	Tarjeta profesional
De Páez Luz Clemencia	C.C. 35.456.344	T.P.A. 23.555

Dirección y domicilio		Ciudad
Carrera 4ª No. 72 –35		Bogotá
Dirección electrónica	**No. Fax**	**Número telefónico**
cavelier@cavelier.com	2 11 86 50	3 47 36 11
En caso de haber presentado poder general para asuntos que se adelanten ante la Delegatura de Propiedad Industrial, sírvase indicar el número de su radicación o protocolo de poder general		

13

4. Datos del trámite

Corrección:

Expediente No 10.026.475

Aparece

Debe ser

Modificación:

☒ **Modificación al capítulo reivindicatorio.**
Presento nuevo capítulo reivindicatorio compuesto por 1 reivindicación con el fin de superar las objeciones hechas por Su Despacho a la presente solicitud de patente y pido respetuosamente que el examen de patentabilidad sea realizado sobre estas nuevas reivindicaciones presentadas.
Respetuosamente manifiesto que a pesar de eliminar materia del pliego reivindicatorio originalmente presentado, mi representada no renuncia a la protección que pueda obtener sobre dicha materia y además se reserva el derecho de presentar una solicitud divisional que la contenga durante el trámite de la presente solicitud, beneficiándose de la fecha de prioridad inicialmente reivindicada.

☐ **Modificación al capítulo descriptivo.**
.

☐ **Modificación al resumen.**

☐ **Modificación a los dibujos.**

☐ **Modificación al solicitante.**

5. Anexos

☐ Poder, si fuere el caso.

☒ Documento que contiene las modificaciones o correcciones.

☐ Copia de la solicitud y sus anexos en formato magnético.

6. Firma	
Nombre y apellidos **LUZ CLEMENCIA DE PAEZ**	Firma Luz Clemencia De Paez
C.C. 35.456.344 DE Usaquén	Tarjeta Profesional 23.555

DGA\DGA\NCA\ID-AF237313\WPC14656

15

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

Espacio reservado para el adhesivo de radicación

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES
CONVERSIÓN, DIVISIÓN Y FUSIÓN DE SOLICITUDES

1. Identificación del Tramite

☐ **Conversión** ☒ **División** ☐ **Fusión**

☒ Patente de Invención

☐ Patente de Modelo de Utilidad

☐ Registro de Diseño Industrial

☐ Esquema de Trazado de Circuitos Integrados

2. Datos del solicitante

Persona Natural ☐ Persona Jurídica ☒

TAKEDA PHARMACEUTICAL COMPANY LIMITED

Nombre o denominación / Nombre o razón social completa

Nombre representante legal

Tipo de empresa Micro ☐ Pequeña ☐ Mediana ☐ Otra ☐

Documento de identificación: ☐ C.C. ☐ C.E. ☐ NIT ☐ Otro Número_____

Nacionalidad/País de constitución	Dirección y domicilio del titular	Ciudad
Japón	1-1, Doshomachi 4-chome, Chuo-ku, Osaka-shi, Osaka 5410045	Osaka

Dirección electrónica	No. Fax	Número telefónico
clientes@cavelier.com	2 11 86 50	3 47 36 11

☐ **Autorizo expresamente a la Superintendencia de Industria y Comercio para que todas las comunicaciones sean enviadas a través de la dirección de correo electrónico**

3. Datos del apoderado:

Apellidos y Nombre	Documento de identificación	Tarjeta profesional
De Páez Luz Clemencia	C.C. 35.456.344	T.P.A. 23.555

Dirección y domicilio		Ciudad
Carrera 4ª No. 72 –35		Bogotá
Dirección electrónica	**No. Fax**	**Número telefónico**
cavelier@cavelier.com	2 11 86 50	3 47 36 11
En caso de haber presentado poder general para asuntos que se adelanten ante la Delegatura de Propiedad Industrial, sírvase indicar el número de su radicación o protocolo de poder general		

16

4. Datos del trámite

CONVERSION	DIVISION	FUSION
Expediente_____ De: _____ A: _____	Expediente : **10.026.475** De: _____ A: _____	Expediente_____ De: _____ A: _____

5. Comprobante de Pago No 13-0014244 Fecha : 2013/02/13
Comprobante de Pago No 13-0022291 Fecha : 2013/03/06

6. Anexos

- [x] Comprobante de pago de la tasa de presentación solicitud por $450.000
- [x] Comprobante de pago por 12 reivindicaciones adicionales después de la décima reivindicación por $ 360.000
- [x] Poder, si fuere el caso con el que se acredita la representación
- [x] Documento que contiene la conversión, división o fusión de la solicitud
- [ ] Copia de la solicitud y sus anexos en formato magnético

7. Firma	
Nombre y apellidos **LUZ CLEMENCIA DE PAEZ**	Firma Luz Clemencia de Páez
C.C. 35.456.344 DE Usaquén	Tarjeta Profesional 23.555

DGA\DGA\NCA\ID-AF237322\WPC14656

NOTA: Esta es una solicitud de división de la materia contenida originalmente en la solicitud de patente No. **10.026.475** .La solicitud de división de la materia se hace como consecuencia de las observaciones hechas por ese Despacho y que fueron dadas a conocer al solicitante por medio del oficio No. 19650 notificado por fijación en lista del 16 de octubre de 2012. Por lo tanto pido que esta solicitud de división de materia sea tratada con el beneficio de presentación de la solicitud original, esto es 05 de marzo de 2010 y las prioridades que allí se reivindican el 07 de agosto de 200 y el 19 de noviembre de 2007

Nota: La copia básica original se encuentra en el expediente No. **10.026.475**

REIVINDICACIONES MODIFICADAS

1. 4–[(2S,3S)–2–etil–3–hidroxi–5–oxopirrolidin–1–il]–2–(trifluorometil)benzonitrilo o una sal de él.

Journal of
Medicinal
Chemistry

© Copyright 2001 by the American Chemical Society

Volume 44, Number 9 April 26, 2001

Perspective

Property-Based Design: Optimization of Drug Absorption and Pharmacokinetics

Han van de Waterbeemd,* Dennis A. Smith, Kevin Beaumont, and Don K. Walker

Department of Drug Metabolism, Pfizer Global Research and Development, Sandwich Laboratories, Sandwich, Kent CT13 9NJ, U.K.

Received September 15, 2000

Introduction and Property-Based Design

Drugs may be administered via different routes, the oral route generally being the preferred for reasons of ease and compliance by the patient. Absorption via these routes will take place through different membranes forming a barrier to the uptake. In 1932, Collander and Bärlund observed that there are similarities and differences between membranes.[1] Furthermore these authors recognized that molecular size and lipophilicity are two important properties for membrane uptake. In 1971, hydrogen bonding was associated with permeability.[2] The understanding of the role of these properties has obviously grown considerably since these early days, and this review shows these findings led to today's concepts on optimal physical properties.

As medicinal chemists learned in the past, the hurdle between a compound binding with high affinity to a target and a successful drug on the market can be enormous. Poor absorption and related poor pharmacokinetics is one of the main reasons for attrition in the drug development process. It is now widely recognized that physicochemical, pharmacokinetic, and biopharmaceutical properties need to be addressed early in drug discovery. Several papers have discussed the thesis that drugs have distinct properties differentiating them from other chemicals. Using neural networks[3,4] or a decision tree approach,[5] a compound can be predicted as being "drug-like" with an error rate of ca. 20%. Similarly, in a study on drugs active as central nervous system (CNS) agents and using neural networks based on Bayesian methods, CNS-active drugs could be distinguished from CNS-inactive ones.[6] From an analysis of the key properties of compounds in the World Drug Index (WDI), the now well-accepted rule-of-5 has been derived.[7] It was concluded that compounds are most likely to have poor absorption when the molecular weight (MW) is >500, the calculated octanol/water partition coefficient CLOGP is >5, number of H-bond donors is >5, and the number of H-bond acceptors is >10. Computation of these properties is now available as an ADME (absorption, distribution, metabolism, excretion) screen in commercial software such as Tsar (from Oxford Molecular Ltd.). This rule-of-5 should be seen as a qualitative absorption/permeability predictor,[8] rather than a quantitative predictor.[9] The property distribution in drug-related chemical databases has been studied as another approach to understand "drug-likeness".[10,11] These aforementioned analyses all point to a critical combination of physicochemical and structural properties,[12] which to a large extent can be manipulated by the medicinal chemist. We propose to call this tool in medicinal chemistry property-based design (see Figure 1). Regarding properties, we intend physicochemical as well as pharmaco- and toxicokinetic properties. These have been neglected for a long time by most medicinal chemists, who in many cases only had the quest for strongest receptor binding as the ultimate goal.

This Perspective first covers some aspects of the properties of biological barriers. In different sections we will look into the estimation of drug absorption via important barriers including the gastrointestinal tract,

* Address correspondence to H. van de Waterbeemd, Ph.D. Fax: +44-1304-656433. E-mail: han_waterbeemd@sandwich.pfizer.com.

10.1021/jm000407e CCC: $20.00 © 2001 American Chemical Society
Published on Web 03/29/2001

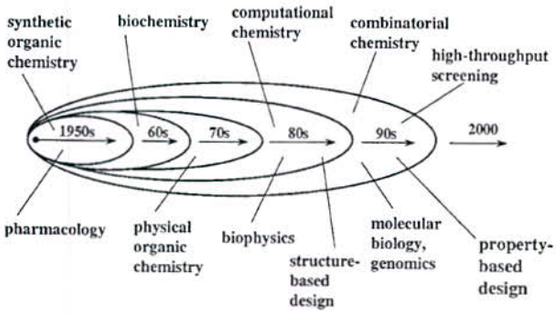


Figure 1. Property-based design, a new tool for the medicinal chemist (modified after ref 13).

blood-brain barrier, and skin. Various approaches for the measurement and computation of physicochemical and molecular properties currently used in the optimization of absorption will be discussed. Finally we discuss the use of physicochemical properties in the design of optimal pharmacokinetic profiles.

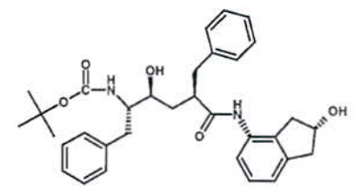
Absorption Barriers

Physicochemical and Biological Barrier. Each cellular membrane can be considered as a combination of a physicochemical and biological barrier to drug transport. Poor physicochemical properties may sometimes be overcome by an active transport mechanism. Before any absorption can take place at all, the first important property to consider is dissolution and solubility. Many cases of solubility-limited absorption have been reported, and therefore solubility is now seen as a property to be addressed at early stages of drug discovery.

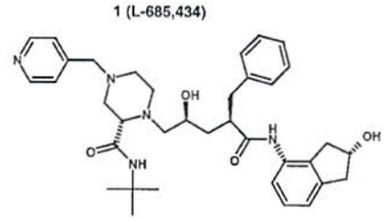
Dissolution. The first requirement for absorption is dissolution of the active compound. Only compound in solution is available for permeation across the gastrointestinal membrane. Solubility has long been recognized as a limiting factor in the absorption process, leading to the implementation of solubility screens in early stages of drug design.[7] Excessive lipophilicity is a common cause of poor solubility and can lead to erratic and incomplete absorption following oral administration. The incorporation of an ionizable center, such as an amine or similar function, into a template can bring a number of benefits including water solubility. A key step in the discovery of the protease inhibitor indinavir (**2**) was the incorporation of a basic amine (and a pyridine) into the backbone of hydroxyethylene transition state mimic compounds such as L-685,434 (**1**) to enhance solubility (and potency).[14]

Dissolution testing has been used as a prognostic tool for oral drug absorption.[15] A biopharmaceutics classification scheme (BCS) has been proposed[16] under which drugs can be categorized into four groups according to their solubility and permeability properties. It has been argued that the principal properties, in fact, are not solubility and permeability but rather the basic components of both, namely molecular size and hydrogen bonding.[17] The BCS has been adopted as a regulatory guidance for bioequivalence studies.

Membrane Transfer. Various mechanisms exist by which substances may be translocated across the membrane of the gastrointestinal tract. These include active



1 (L-685,434)



2 (Indinavir)

carrier-mediated processes; however, these are generally restricted to nutrients and are not normally relevant to the absorption of drug molecules. The two most common for the absorption of drugs are passive transfer by diffusion across the lipid membranes and passive diffusion through the aqueous pores at the tight junctions between cells. These two processes are referred to as transcellular and paracellular absorption, respectively. The ability of a drug to diffuse across the lipid core of the membrane is clearly dependent on physicochemical properties. Thus transcellular absorption is the predominant pathway for lipophilic molecules. In addition, the similarity in membrane structure between species tends to result in similar transcellular absorption across animal species and humans.

The paracellular route of absorption is particularly important in determining the efficiency of absorption of hydrophilic compounds. The restricted diameter of the aqueous pores (typically 3 to 6 Å in humans) means that molecular size also becomes important in the ability of polar molecules to utilize this pathway. Paracellular absorption varies in different regions of the gastrointestinal tract due to varying pore size and frequency. In addition, species differences in absorption have been attributed to variation in pore size, leading to varying efficiency of the paracellular pathway. Most notably it has been speculated that the higher absorption of polar drugs in the dog, compared to rat and human, is due to increased pore size in the dog. Examples of drugs showing this species difference include the β-adrenoceptor antagonists, atenolol and xamoterol. Atenolol (log $D_{7.4} = -1.9$, molecular weight 266) shows complete absorption (~90%) in dog but only about 50% absorption in rat and human.[18-20] Absorption of the larger molecule, xamoterol (log $D_{7.4} = -1.0$, molecular weight = 339), is lower but remains higher in dog (about 36%) than in rat (19%) or human (9%).[21,22] This difference is shown graphically in Figure 2, illustrating the improved model of human absorption of hydrophilic compounds provided by the rat. A study examining the absorption of polar poly(ethylene glycol)s of increasing molecular weight confirmed the higher permeability of dog intestine compared to rat.[23] In this study, absorption in rat decreased sharply from 79% to 2% over the molecular weight range 282 to 591. In contrast, absorption in dog remained 100% up to molecular weight 600, declining to around 13% at molecular weight 900. This was taken

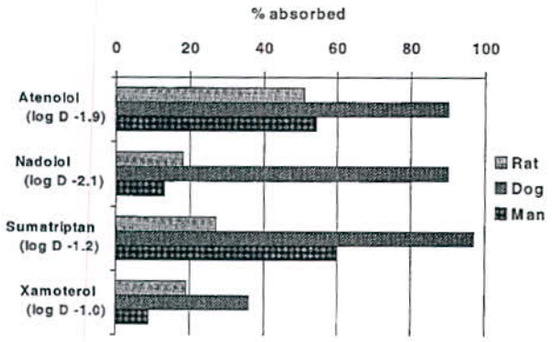


Figure 2. Comparison of extent of absorption in rat, dog, and human for a number of hydrophilic compounds (log $D_{7.4}$ < −0.5), illustrating the greater permeability of dog intestine relative to the other species for polar drugs.

as evidence for larger aqueous pores in dog compared to rat. Thus with regard to animal species modeling absorption in humans, rat appears to be a better predictor than dog.

Human Gastrointestinal (GI) Tract. This organ is well adapted for its role of digesting food and absorbing nutrients. Since most drugs are delivered orally, it is also the major site for drug absorption. Thus, to understand the biochemical processes confronting a drug during its absorption, it is necessary to review the physiology of the GI tract.

There are two principal functions of the gastrointestinal tract epithelium. The first of these is to act as an efficient surface for the absorption of essential dietary elements, such as fluid, nutrients, and electrolytes. The second is to act as a selective barrier between the external environment and the systemic circulation, preventing the entry of xenobiotics which may be potentially harmful to the organs or homeostasis of the body.

The duodenum, jejunum, and ileum (together termed the small intestine) are the major sites of nutrient (and drug) absorption. The human duodenum is approximately 20 cm long, and it is here where the acid of the stomach is neutralized to a more physiological pH. The jejunum and ileum together are about 700 cm long and are responsible for most drug absorption.

The gut wall within the small intestine is particularly well adapted for its role as an absorptive surface with modifications. The internal surface of the small intestine exhibits lumenal folding which increases the surface area for absorption by 3-fold. The gut wall is covered with finger-like projections called villi, which provide a further 10-fold increase in surface area. In addition, the gut wall epithelial cells themselves are polarized such that on the lumenal surface there are millions of microvilli providing for another 20-fold increase in surface area. Thus, overall the surface area available for absorption is some 600-fold higher than would be provided by a simple cylinder. The estimated surface area[24] of the human gut is 200 m^2. With such a large surface area available for absorption, there is the potential for the absorption of molecules that would be harmful to the organism (such as plant toxins in the diet). Consequently, animals have evolved certain protection mechanisms, which are found in the gut wall epithelial cells. It is these protection mechanisms which can limit oral absorption of drug molecules.

The cytochrome P450s (CYPs) are the major enzymes involved in the metabolism of drugs. Most effort has focused on the hepatic CYPs. However, some of the CYP isoforms present in the liver are also expressed in the gut wall epithelium. Thus, it is suggested that CYP2D6 is present in the gut at levels which are 10 to 20% of those in the liver,[25] and therefore its physiological significance is probably rather limited. The major isoform present in the human gut is CYP3A4, which in the small intestine approaches 50% of the hepatic level. The sequence of small intestinal cDNAs for CYP3A4 is identical to that expressed in the liver, suggesting that they are the same protein.[26] Such a study has been performed for the immunosuppressant sirolimus, with pig, rather than human, intestine, where metabolites formed by CYP3A enzyme appeared to be actively transported against a concentration gradient.[27]

P-Glycoprotein (P-gp) was first discovered in 1976, and it was suggested that it played a role in modulating cellular permeability (P stands for permeability).[28] P-Glycoprotein is expressed in vivo in organs including liver, pancreas, kidney, and intestine.[29] In the gut, the expression is highly localized to the apical surfaces of the gut wall epithelium. It is this localization that prompted these authors to suggest that P-glycoprotein has a barrier role, effectively functioning to prevent entry of substances into the animal and reduce the oral absorption of substrate compounds. Further it has been shown that P-glycoprotein mRNA levels increase longitudinally along the intestine, with the lowest levels in the stomach and highest in the colon,[30] an observation that has implications for controlled release technology. Using duodenal mucosal biopsies ($n = 20$), it has been demonstrated that there was a 10-fold variation in the P-glycoprotein mRNA level, suggesting that there will be variability in the expression of P-glycoprotein in the gut leading to potential variability in oral absorption.[31]

In addition to P-gp other transporters may appear to be important in limiting or promoting oral absorption.[32,33] Examples include the oligo-peptide transporter (PEPT1), the monocarboxylate transporter (MCT), and the multidrug resistance-associated proteins (MRP family).

P-Glycoprotein and CYP3A4 May Act Together To Limit Oral Absorption. Many authors have suggested that gut wall CYP3A4 and P-glycoprotein act in a concerted manner to control the absorption of their substrates.[24,27,30,34−36] This is based on the large overlap of substrates between the two[30] and the proximity of their expression within the gut wall. Both these proteins, CYP3A4 and P-gp, share the fact that both have rather indiscriminative binding sites and most likely more than one binding site.

Thus, it is proposed[34] that P-glycoprotein effectively recycles its substrates, allowing CYP3A4 several opportunities to metabolize compounds in the gut. In this way, a small amount of CYP3A4 in the gut wall (relative to the liver content) can exert a profound extraction of the compound.

This certainly appears to be the case for cyclosporin A, which is a substrate for both CYP3A4 and P-glycoprotein, with intestinal metabolism accounting for

up to 50% of oral cyclosporin metabolism. The expression of CYP3A4 and P-glycoprotein in the intestines of 25 kidney transplant patients and their effect on the oral clearance of cyclosporin A have been studied.[36] No correlation between the expression of CYP3A4 in the liver and intestine (i.e., a high expression in liver did not mean a high expression in gut) was found, suggesting that the levels of CYP3A4 in these organs are not coordinately regulated. In addition, there was no correlation between the amount of P-glycoprotein and CYP3A4 in the gut. Interestingly, C_{max} and oral clearance of cyclosporin A could be predicted by comparison of liver CYP3A4 and intestinal P-glycoprotein levels, but intestinal CYP3A4 levels could not be implicated despite a 10-fold variability in enterocyte content. In addition, analysis revealed that 56% of the variability in oral clearance of cyclosporin A was due to liver CYP3A4 and a further 17% due to variability in intestinal P-glycoprotein. Variability in intestinal CYP3A4 did not produce any further variability in oral clearance of cyclosporin A. These authors conclude that the rate-determining step in intestinal extraction of cyclosporin A is cycling due to gut wall P-glycoprotein. If this is the case, cyclosporin A interactions (e.g., with ketoconazole) which were thought to be due to inhibition of gut wall CYP3A4 may actually be due to inhibition of P-glycoprotein. These data are supported by data from others who administered cyclosporin A at various points in the GI tract and showed that absorption was significantly inversely correlated with gut wall P-glycoprotein mRNA levels.[37] In summary, there is a distinct overlap of CYP3A4 and P-glycoprotein substrates. The close proximity of these proteins in the gut wall has led to the suggestion that the two act in concert to complete intestinal first-pass extraction of their substrates. Certainly, this appears to be the case with cyclosporin A.

Design of Drugs for Oral Absorption. To maximize oral absorption, a drug must have sufficient transmembrane flux as well as avoid efflux by P-glycoprotein and metabolism by gut wall CYP3A4. The obvious method to do this would be to design out the characteristics of the molecule which make it a substrate of P-glycoprotein and CYP3A4. Achievement of this goal may well prove to be an insurmountable challenge due to the lack of clear structure–activity relationships (SARs) for P-glycoprotein and CYP3A4.

P-glycoprotein can accommodate a wide range of substrates with the only requirement for transport being a degree of hydrogen bonding in a distinct spatial arrangement and a planar aromatic region.[38] It was concluded that partitioning into the lipid membrane is the rate-limiting step for the interaction of a substrate with P-gp and that dissociation of the P-gp-substrate complex is determined by the number and strength of the hydrogen bonds formed between the substrate and the transporter.[39] Using the multivariate partial least squares (PLS) approach, it was found that properties associated with the size of the molecular surface, polarizability, and hydrogen bonding had the largest impact on the P-glycoprotein-associated ATPase activity.[40]

CYP3A4 may well accommodate a wider substrate range than P-glycoprotein, with SAR suggesting that hydrophobic interactions orientate the substrate within the active site such that sites of electron density are exposed.[41] Thus, modifications designed to increase membrane permeation (i.e., increasing lipophilicity) may well lead to an increased rate of metabolism by this CYP.

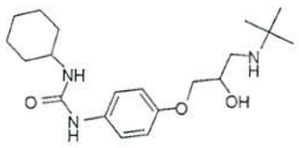
A more pragmatic approach to this problem may well be to concentrate on the factors that give a drug a high permeation rate across the gut wall cell membrane. Thus, we need to balance lipophilicity (taking care to avoid increased metabolism by CYP3A4 in gut and the liver), molecular size, and hydrogen bonding capacity to achieve a high membrane permeation rate. This will lead to a high concentration of the drug within the membrane, effectively saturating the efflux component maintained by P-glycoprotein. In the absence of cycling by P-glycoprotein, the first-pass metabolism by gut wall CYP3A4 will be minimized, leading to a well-absorbed drug. The effect of changing influx, efflux, and metabolism rates on the overall extent of absorption of a compound has been modeled.[42] Crucially, the slower the rate of permeation of the compound across the cell, the longer the residence time in the enterocyte and the more opportunity there is for metabolism of the compound. This means that permeation rate, governed by physicochemistry and P-glycoprotein-mediated efflux, is all important in determining the absorption of a compound. In addition, it is the interplay between efflux and metabolism that allows the gut to exert a greater first-pass extraction than would be expected from its level of metabolic enzymes. Not surprisingly, the model shows that if both efflux and metabolism are inhibited, there is the greatest increase in fraction absorbed.

Overcoming the barriers to the absorption of our drug molecules will be a major challenge in the future as drug leads tend to be of higher molecular weight and often contain more H-bond functionality. We have identified that intestinal CYP3A4 and P-glycoprotein can act as a concerted barrier to drug absorption. Substrates of these proteins are likely to exhibit first-pass extraction in the gut wall, low oral bioavailability, and potentially nonlinear pharmacokinetics. In addition, they will be prone to interactions with other substrates and inhibitors. Overall, a drug discovery aim should be to remove the potential for gut wall first-pass extraction. This may be achieved by tailoring the molecule to exhibit a high permeation rate across membranes by modulating lipophilicity, lowering the molecular size, and reducing the hydrogen bonding of lead compounds, as will be discussed below.

Oral Absorption of P-Glycoprotein Substrates. As transporter science progresses, it is becoming apparent that many marketed drugs are P-glycoprotein substrates. These include protease inhibitors,[43,44] quinidine,[45] fexofenadine,[46] and several β-blockers,[47–49] and for each of these, P-glycoprotein can profoundly affect their disposition.

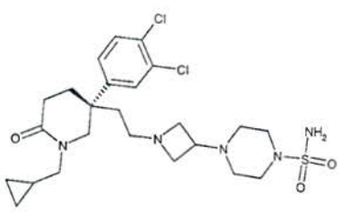
A good example of this is the β-blocker talinolol (**3**). In Caco-2 cells, the transcellular flux of talinolol was highly polarized with significantly greater flux rates in the nonabsorptive (B to A) direction than in the absorptive (A to B) direction.[50] This polarization was concentration-dependent and modulated by the addition of verapamil, indicating that P-glycoprotein was involved. Subsequently, it has been shown that talinolol does

indeed interact with P-glycoprotein[51] and that this has a profound effect on its disposition in the rat.[52] In humans, talinolol exhibits 54% oral bioavailability, mainly due to incomplete oral absorption.[53] It appears that oral absorption of talinolol changes with the site of administration in the gut.[54] There is a progressive decrease in the oral AUC with increasing distance from the teeth, which is consistent with the increase in P-glycoprotein expression in the lower part of the GI tract. In addition, the oral absorption of talinolol is dose-dependent[50] with a 31-fold increase in oral AUC for a 16-fold increase in dose (12.5 mg to 200 mg). This has been ascribed to the saturation of gut wall P-glycoprotein, similar to the effect observed in Caco-2 cells, with a subsequent increase in the fraction absorbed.



3 (Talinolol)

Our laboratories have recently disclosed a further striking example of P-glycoprotein limiting the oral absorption of a drug. UK-224,671 (**4**, a sulfamide NK_2 antagonist) was shown to exhibit 8% oral bioavailability in humans[55] which was reduced to 4% after feeding. Intravenous administration suggested that the hepatic extraction of UK-224,671 was not extensive, indicating that the low oral bioavailability was due in large part to poor absorption from the GI tract. This was confirmed using Caco-2 cell data where the absorptive flux was low ($(1-2) \times 10^{-6}$ cm/s), suggesting that UK-224,671 exhibits low transcellular flux. In addition, the non-absorptive flux was $17-19 \times 10^{-6}$ cm/s, which is indicative of transporter-mediated efflux.[56]

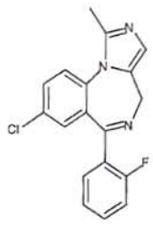


4 (UK-224,671)

The use of P-glycoprotein knockout mice[57] enabled the oral absorption of UK-224,671 to be further examined. The oral bioavailability in wild-type (P-glycoprotein expressing) mice was low (<2%), relating well to the observed human oral bioavailability. However, in mice lacking P-glycoprotein (mdr1a (−/−)), the oral bioavailability was 20%. Thus, UK-224,671 is a P-glycoprotein substrate, and this in combination with its poor membrane permeability leads to the observed poor absorption in both mouse and human.

Thus, many drugs appear to be substrates for P-glycoprotein, and this can have profound effects on their absorption from the GI tract, including limiting the amount of drug absorbed, introduction of variable and site-dependent absorption, and dose-dependent absorption characteristics if P-glycoprotein is saturated. Clearly, if the aim of oral therapy is to provide reproducible and complete absorption, the effect of P-glycoprotein on the drug must be minimized.

Absorption of Cytochrome P450 Substrates. Metabolism of midazolam (**5**), a CYP3A substrate, was examined in mucosa from duodenal, jejunal, and ileal sections of 20 human donors.[58] The CYP3A content was highest in the duodenum and lowest in the ileum. Thus, unlike P-glycoprotein, the concentration of gut wall CYP3A decreases from the proximal to the distal regions. Consequently, the upper small intestine (duodenum) is the major site for intestinal CYP3A-mediated first-pass metabolism, and first-pass metabolism by the gut may be reduced when drug is absorbed at more distal sites in the small intestine.



5 (Midazolam)

The oral bioavailability of midazolam in humans is approximately 36% due to extensive first-pass metabolism.[59] It was shown[58] that in anhepatic patients (undergoing liver transplantation) the gut wall extraction ratio of midazolam is 0.43. This corresponds well with a study in healthy volunteers where estimates of the intestinal and hepatic first-pass extraction ratios were 0.44 and 0.43, respectively.[60] Thus, the gut contributes approximately 50% to the first-pass metabolism of midazolam following oral administration. Also, the variability in the first-pass extraction of midazolam following intraduodenal administration was high (mean value, 0.43; range, 0−0.77), showing that the gut wall can contribute to the significant variability observed with high first-pass extraction drugs.

The gut wall contributes significantly to the first-pass extraction of verapamil (overall oral bioavailability, 16%; gut wall extraction ratio, 0.58; liver extraction ratio, 0.62).[61] A significant gut wall first-pass extraction for cyclosporin A (oral bioavailability, 27%; gut wall extraction, 0.41; hepatic extraction, 0.76) has been shown.[62] In addition, the other immune suppressants, tacrolimus [34,63] and sirolimus,[27] have been shown to undergo significant first-pass extraction by the intestine, as has felodipine[64] and fentanyl.[65] Clearly, the gut wall can play a major role in limiting oral bioavailability for CYP3A substrates.

Assessment of Absorption

Gastrointestinal Tissue Preparations. Tissue preparations for assessing absorption have most commonly been performed using rat tissue. The rat, as previously discussed, providing a relatively good model of absorption in humans. These preparations fall into

two broad categories, either isolated sections of gut tissue or lengths of the gastrointestinal tract perfused in situ. Probably the simplest system is everted rat intestinal sacs, which offer a relatively quick and inexpensive method of measuring drug uptake rates. Everted gut rings are simpler still. However, as the technique measures uptake of drug by the gut tissue, it is generally only practical when radiolabeled drug is available and not necessarily reflective of the absorption process per se. Everted gut sacs offer the flexibility that drug permeation can be investigated in different regions of the gastrointestinal tract, thus providing the opportunity to study regional differences in absorption. This has been demonstrated for the absorption of D-xylose, a passively absorbed monosaccharide. D-Xylose shows 20-fold higher uptake in the small intestine relative to the large intestine using everted gut sacs. This result has also been supported by data using in situ intestinal loop models.[66] Everted gut sacs and rings have been widely used in mechanistic studies of amino acid and peptide transport and have an extensive database in the literature.[67] When considering everted gut sacs as a model of gut absorption, it should be borne in mind that this system measures transport from one side of the gut tissue to the other. In the in vivo situation, transport occurs through the gut epithelium into the blood supply. Hence this is not a true model of the process of absorption. Another drawback to the use of everted gut sacs is the diminishing viability of the tissue over the time course of the experiments. Binding of drugs to tissue is also a concern, as the full permeation potential may not be realized in this isolated system. A refined system for the determination of transport across isolated sections of intestinal tissue is the Ussing chamber.[68] In this preparation, intestinal tissue from any region of the gastrointestinal tract is stripped of underlying muscle and mounted in a chamber as the barrier between two compartments. Both the mucosal and serosal surfaces are bathed with oxygenated buffer solution, and the passage of solute across the tissue is measured by standard analytical techniques. Integrity of the barrier is monitored by measurement of transepithelial electrical resistance across the tissue and permeability of a marker molecule such as mannitol.[69] The Ussing chamber has been used in the assessment of absorption of peptidergic compounds by the paracellular route in the search for orally active GP-IIb/IIIa antagonists.[70] The Ussing chamber technique is also suitable for studying the formation of metabolites formed by intestinal enzymes and their transport across the epithelial barrier. Permeability in the Ussing chamber using rat jejunum has been shown to be highly predictive of permeability in human jejunum and the extent of oral absorption in humans.[71] In this study, the rate of absorption from human jejunum was determined using a single-pass perfusion method. This analysis included a diverse set of passively absorbed drug molecules encompassing molecules absorbed via both the paracellular and transcellular routes (Figure 3) in addition to compounds absorbed by active-carrier-mediated uptake. A similar analysis, for a different diverse compound set, showed a modified Ussing chamber technique to be predictive of both rat and human absorption.[72]

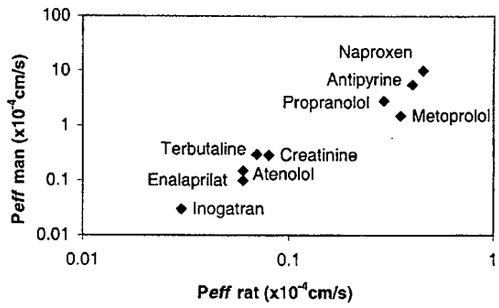


Figure 3. Correlation between permeability in rat jejunum in the Ussing chamber (in vitro) and human jejunum (in vivo) for a range of passively absorbed compounds.[71]

In situ intestinal loop preparations have been widely used for the evaluation of drug absorption over many years (e.g., ref 73). These preparations have been claimed to offer significant advantages over isolated gut preparation methods by virtue of intact nerve and blood supplies in the in situ model.[74] The experimental procedure typically involves isolation of an approximately 20 cm length of rat small intestine, which remains in situ and is perfused in a recirculating manner. Disappearance of test molecules from the perfusate can then be monitored using conventional analytical methods, permitting calculation of an absorption rate normalized for the length of intestine. This procedure has been used to demonstrate the markedly differing permeability of lipophilic and hydrophilic β-adrenoceptor antagonists, practolol and propranolol.[75] A more extensive study was performed comparing the permeability of 11 β-adrenoceptor antagonists ranging in lipophilicity from atenolol (log $D_{7.4}$ −1.9) to penbutolol (log $D_{7.4}$ +2.3) in three different regions of the gastrointestinal tract.[76] This study showed negligible absorption from the stomach for all compounds. Absorption rates were generally similar in the small intestine and colon, with a greater than 10-fold faster rate of absorption observed for the most lipophilic compound (penbutolol) in comparison to the most hydrophilic compounds (atenolol). Within structural series, the model shows excellent correlation with in vivo absorption in both rat[77] and human.[78]

Caco-2 Cell System as a Model for Gastrointestinal Absorption. At present, probably the most widely used system for predicting absorption is by determination of the permeation rate of compounds through monolayers of a human colon adenocarcinoma cell line Caco-2.[79] The use of Caco-2 cell lines in the assessment of gut membrane permeation has expanded rapidly over recent years. In this system, a monolayer of a human intestinal cell line (Caco-2) is grown on a permeability filter support. Currently the 24-well format is used, but a 96-well system has been announced. Measuring the passage of compounds across this cell monolayer from a donor to acceptor compartment then assesses permeability.[80] Good correlations have been observed between permeability across Caco-2 monolayers and extent of absorption.[78] For a series of six nonpeptidic compounds exhibiting between 5 and 100% absorption in humans, measured permeability in Caco-2 experiments ranged from 0.5 to $>50 \times 10^{-4}$ cm/min. All of these compounds

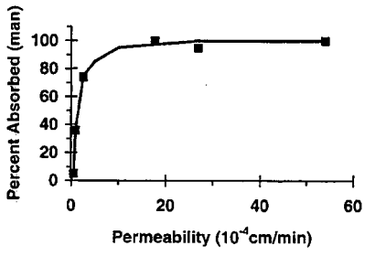


Figure 4. Caco-2 permeability versus the extent of absorption in humans for a series of six compounds.[78]

which showed permeability greater than 20×10^{-4} cm/min were completely absorbed (Figure 4).

While Caco-2 data can provide evidence that a compound will be well absorbed, the steepness of the slope (as shown in Figure 4) means that compounds showing low or modest permeability rates through this monolayer may or may not show a high degree of permeability in vivo. Another complicating factor, which may limit the predictive ability of this system, is the overexpression of P-glycoprotein in this cell line. Caco-2 cell monolayers are polarized with apical and basal surfaces to the cell monolayers. The P-glycoprotein efflux pump is expressed on the apical side of the monolayer and has been shown to mediate the efflux of compounds such as cyclosporin A in Caco-2 experiments.[81] Substrates for this transport protein will be prevented from crossing the monolayer due to efflux back into the donor compartment. P-glycoprotein levels also vary between Caco-2 preparations, and the transporter may also be saturated by some substrates. These variables obviously complicate extrapolation from in vitro to in vivo. Caco-2 cells probably offer the most versatile system currently available for measuring drug permeability. They require considerable time, expense, and effort to establish and maintain the cell line. However, they provide an extremely simple system to measure permeability with straightforward analysis of drug in the buffer solutions that comprise the donor and acceptor media. This system is ideally suited for the measurement of passive transcellular permeation, which is the route of absorption for the majority of drug compounds. In cases where paracellular absorption may be involved, the absence of aqueous pores in the monolayer limits the applicability of Caco-2 cells. Failure to consider the effect of plasma binding can result in an overestimate of basolateral to apical efflux and result in misleading net flux calculations.[82] More realistic sink conditions may be obtained through the presence of human plasma on the basolateral side. Such studies demonstrate that there is scope for further optimization of the Caco-2 model.

Alternatives to the Caco-2 Model. While the Caco-2 system has been extensively used as an absorption model, it is not without drawbacks. One criticism of the model is its already discussed poor representation of the paracellular route. This is due to tight junctions between the cells of the monolayer reflected in high transepithelial resistance (about 400 $\Omega \cdot cm^2$) compared to mammalian intestine (about 60−120 $\Omega \cdot cm^2$). This is considered the main factor in the approximately 50-fold lower permeability of mannitol (a marker of paracellular permeability) in Caco-2 monolayers compared to rat ileum.[83] An alternative colonic cell line, HT29-18-C_1, has shown some advantage in demonstrating reduced transepithelial resistance (100−300$\Omega \cdot cm^2$) and increased permeability to compounds absorbed via the paracellular route.[84]

While the Caco-2 monolayer is more applicable to compound screening than methods using animal tissues, it remains relatively labor intensive with the need for cell culture facilities. The monolayers are also slow to develop to an integral membrane, typically requiring 21 days prior to being suitable for use. An alternate cell line derived from dog kidney is the MDCK cell line, which has the advantage of requiring only 3 days in culture to reach a similar level of membrane integrity to Caco-2 cells.[85] While the MDCK cells are derived from kidney in contrast to Caco-2 cells which are derived from human colon, the two cell lines share many common epithelial cell characteristics. It still is an open debate whether the human colon carcinoma cell line Caco-2 is a better model for human intestinal absorption than the dog kidney cell line MDCK. More detailed characterization of transporters and other cell constituents, as well as differences in permeability related to physicochemistry of the drugs, will be needed. A further cell line of interest is LLC-PK_1, which can be used to express higher levels of CYP3A4 to be able to study the influence of metabolism and transport in a single cell line.[86]

Assessment of the Effect of P-gp on Membrane Transport. Two approaches are currently in use. The first is a direct method consisting of making a comparison between apical to basolateral flux to the reverse process in Caco-2 cells. The second is an indirect method based on measurement of the effect of membrane transport using a P-gp binding assay,[87] an ATPase assay,[88] and an inhibition assay. It can be foreseen that through a rational combination of such screens we will be able to separate passive transport from efflux processes, and thus will be able to study the structure−activity relationships of each of these processes separately.

Measurement and Computation of Molecular Properties

Experimental Approaches. The above-discussed Caco-2 or MDCK cell lines as models for oral absorption estimation have relatively modest throughput. In recent years, the advent of combinatorial chemistry and high-throughput screening has increased the demand for higher throughput in the measurement of physicochemical and pharmacokinetic properties.[89] High-throughput solubility measurements have been developed which can be used in early discovery.[7,90,91] New methods to measure pK_a values are being explored,[92] and an instrument for high-throughput pK_a measurement has been announced.[93] Several approaches for higher throughput lipophilicity measurements have been developed in the pharmaceutical industry,[93] and some are becoming commercially available.[94] A convenient method to measure octanol/water partitioning (log P) and distribution (log D) is based on potentiometric titration, called the pH method.[95] It gives both the compound's log P value and a complete log D−pH profile in a single experiment. This method is also suitable for measurement of liposomal membrane−water partition coefficients.[96]

Traditional octanol/water distribution coefficients are still widely used in QSAR (quantitative structure−

activity relationships) and in ADME/PK studies. However, alternatives have been proposed. To cover the variability in biophysical characteristics of different membrane types, a set of four solvents has been suggested, sometimes called the "critical quartet".[97-99] In addition, the 1,2-dichloroethane (DCE)/water system has been promoted as a good alternative to alkane/water due to its far better dissolution properties,[98,99] but it may find little application because of its carcinogenic properties.

Immobilized artificial membranes (IAM) are another means of measuring lipophilic characteristics of drug candidates and other chemicals.[100-104] IAM columns may better mimic membrane interactions than the isotropic octanol/water or other solvent/solvent partitioning system. A further method is called immobilized liposome chromatography (ILC).[105-106] Compounds with the same log P were shown to have very different degrees of membrane partitioning on ILC depending on the charge of the compound.[106] The pH-metric method can also be used to study liposome[107] or membrane partitioning. Another relatively new lipophilicity scale is based on micellar electrokinetic chromatography (MEKC).[108]

The two major components of lipophilicity are molecular size and hydrogen bonding.[109] An experimental measure for hydrogen bonding is the difference between the octanol/water and alkane/water partitioning.[110] However, this involves tedious experimental work and it appeared that calculated descriptors for hydrogen bonding can most conveniently be assessed[109] (see below).

The dogma that only neutral species cross a membrane has been challenged.[8] Studies with Caco-2 monolayers also suggested that the ionic species may contribute considerably to overall drug transport.[111] Various ways an ion may cross a membrane have been described.[112] These include transport as ion (trans- and/or paracellular), ion pair, or protein-assisted (using the outer surface of a protein spanning a membrane). Using cyclic voltammetry it was demonstrated that compounds in their ionized form pass into organic phases and might well cross membranes in this ionized form.[113] The difference between the log P of a given compound in its neutral form (log P^N) and its fully ionized form (log P^I) has been termed diff(log P^{N-I}), and it contains series specific information and expresses the influence of ionization on the intermolecular forces and intramolecular interactions of a solute.[113-114] It is unclear at present how these latter concepts can be used in drug design. The importance of drug ionization in the in vitro prediction of in vivo absorption was discussed.[115] When the apical pH used in Caco-2 studies was lowered from 7.4 to 6.0, a better correlation was obtained with in vivo data, demonstrating that careful selection of experimental conditions in vitro is crucial to have a reliable model.

Computational Properties. Calculation of many different descriptors is possible using a range of commercially available software packages, such as Sybyl, Cerius2, Tsar, Molconn-Z, Hybot, etc. Due to its key importance, a continued interest is seen to develop good log P estimation programs.[116,117] Most log P approaches are limited due to a lack of parametrization of certain fragments. For the widely used CLOGP program, a new version avoiding missing fragments has become available.[118] Most log P programs are referring to the octanol/water system. On the basis of Rekker's fragmental constant approach, a log P calculating for aliphatic hydrocarbon/water partitioning has been reported.[119] These values may offer a better predictor for uptake in the brain. A number of rather comprehensive reviews on lipophilicity estimation have been published.[120-122] Considerable interest is focused on the calculation of hydrogen-bonding capability for use in QSAR studies,[123] for design of combinatorial libraries,[124] and for correlation with absorption and permeability data.[125,126] Several new descriptor sets are based on quantification of 3D molecular surface properties, and these have been explored for the prediction of, e.g., Caco-2 permeability[127] and oral absorption (see below in Computational Approaches to Oral Absorption).

Artificial Membranes and Liposome Partitioning. When screening for absorption by passive membrane permeability, artificial membranes have the advantage of offering a highly reproducible and high-throughput system. Artificial membranes have been compared to Caco-2 cells[128] and, for passive diffusion, found to behave very similar. This has formed the basis of a parallel artificial membrane permeation assay (PAMPA) for rapid prediction of transcellular permeation potential.[129-130] In this system, the permeability through a membrane formed by a mixture of lecithin and an inert organic solvent on a hydrophobic filter support was assessed. While not completely predictive, PAMPA shows definite trends in the ability of molecules to permeate membranes by passive diffusion, which may be valuable in screening large compound libraries. This system is now commercially available.[90] A similar system has been reported based on polycarbonate filters coated with hexane.[131]

Liposomes, which are lipid bilayer vesicles prepared from mixtures of lipids, also provide a useful tool for studying passive permeability of molecules through lipid. This system has, for example, been used to demonstrate the passive nature of the absorption mechanism of monocarboxylic acids.[132] Liposome partitioning of ionizable drugs can be determined by titration and has been correlated with human absorption.[133]

Physicochemical Models for Absorption Processes. Octanol/water partition (log P) and distribution (log D) coefficients are widely used to make estimates for membrane penetration, including gastrointestinal absorption[134,135] and BBB crossing,[110,136] and correlations to pharmacokinetic properties.[137] Molecular size and hydrogen bonding have been unravelled as the two major components of log P or log D.[109,138,139] In more recent years it was found that the hydrogen-bonding capacity of a drug solute correlates reasonably well to passive diffusion. Initially Δlog P, the difference between octanol/water and alkane/water partitioning, was suggested as a good measure for solute H-bonding,[110,138,140] but more recently it was found that computational approaches to H-bonding are more convenient (see below). Molecular size can be a further limiting factor in oral absorption.[141] The Lipinski rule-of-5 proposes an upper limit of MW 500 as acceptable to complete oral absorption.[7]

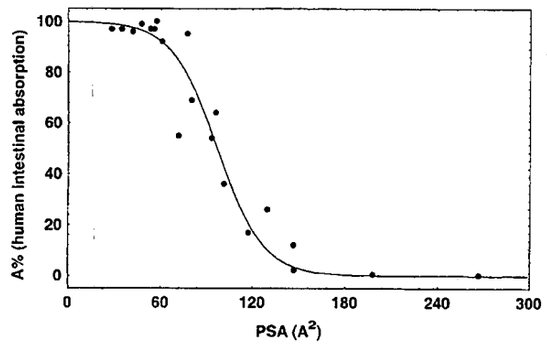


Figure 5. Prediction of oral absorption from the polar surface area (PSA). Sigmoidal relationship between human intestinal absorption and single conformation PSA.[143,144]

Computational Approaches to Oral Absorption. On the basis of the observations that there are optimal ranges for lipophilicity, hydrogen bonding, and molecular size, more advanced computational models could be developed and will be further explored in the future to assist in the design of libraries and further optimization of leads into clinical candidates. Computational approaches are useful in the evaluation of virtual libraries and the prioritization of various options. Computational methods in the prediction of oral drug absorption have been reviewed.[106,142] Both single property correlations using, e.g., polar surface area (see Figure 5)[143,144] as well as multiple variable approaches[106,127,134,145–147] have been successfully used to estimate oral absorption. Most important properties for absorption and permeability appear to be those related to hydrogen-bonding capacity and molecular size of the drug, rather than lipophilicity alone.[106,125] The problem with some of these approaches is that for the medicinal chemist rather obscure or ill-defined descriptors are used such as UNI and PMEP, in MSWHIM,[127] or the integy moment in VolSurf.[146,148] Such descriptors can be difficult to translate back into structural modifications leading to better compounds.

Another approach is based on the so-called solvation equation.[139] In this method, solution-related properties such as solubility,[149] partitioning,[139] blood-brain transport,[150] and gastrointestinal absorption are correlated with a set of five molecular descriptors. These are excess molar refraction, solute polarity/polarizability, solute overall acidity and basicity, and the McGowan characteristic volume. It is important to note that these five descriptors are always forced into the regression equation, despite the fact the some may be intercorrelated,[139] leading in many cases to over-optimistic statistics.

These in silico predictions of absorption are most likely reliable only for compounds that are transported mainly by passive diffusion. More needs to be learned about how to account for transporters involved in active uptake and in secretive efflux, and the role of gut wall metabolism in such predictions (see above in Biological Barriers to Absorption).

Prediction of Oral Bioavailability. Predictive methods for oral absorption are a first step toward the prediction of human oral bioavailability. First attempts in that latter direction have now been published.[151,223] Lipophilicity, expressed as the distribution coefficient at pH 6.5 was found to be a significant factor influencing bioavailability. It appeared also useful to define a new parameter $\Delta\log D$ ($\log D_{6.5} - \log D_{7.4}$) which allows a better classification of the compounds.[151] These and similar concepts will be explored further in coming years.

Estimation of Absorption via Other Absorption Barriers

Blood-Brain Barrier. Molecular factors influencing drug transfer across the blood-brain barrier have been studied by experimental[150,152] and theoretical approaches.[136,153–159] Using dynamic polar surface area (an averaged polar surface area based on a set of low-energy conformations) as a descriptor, a linear relationship was found with brain penetration for 45 drugs,[158] this in contrast to reported sigmoidal curves for oral absorption.[143,144] Brain penetration decreases with increasing polar surface area. Orally active drugs that are transported by the transcellular route should not exceed a polar surface area (PSA) of about 120 Å^2 [136,158] and for good brain penetration should even be tailored to PSA < 100 Å^2 [136] or even smaller <60–70 Å^2.[158] PSA can thus serve as a crude measure to oral absorption and brain uptake, but nevertheless it does not account for active processes involving P-gp, active influx, and metabolism.

Studies on brain penetration of glycine/NMDA receptor antagonists have shown that it is necessary to either keep log P low or pK_a of the acidic compounds high to obtain good CNS activity.[160] In the same study it was shown that only the unbound fraction of drug in the plasma is available to permeate the brain. Besides physicochemical properties as the limiting factor for brain uptake, it is now widely recognized that transporters, particularly P-glycoprotein, play a key protective role to the brain.[161,162] Primary cultures of cerebral capillary endothelial cells have been explored as a model for CNS drug delivery, and it was suggested that studying uptake kinetics in the cells could be more relevant than measuring transmonolayer flux.[163]

Skin. A whole range of experimental skin models is typically used to make estimates of percutaneous absorption. In addition, theoretical percutaneous absorption models have been developed to predict skin permeability.[164] Simultaneous penetration of drug by transcellular and intracellular pathways, as well as movement of drug between these two pathways has been mathematically modeled.[165] Very much similar to the transport through other types of membranes, hydrogen bonding, size, and lipophilicity have been identified as the most important properties for permeation through the human skin.[166–173] The ideal lipophilicity range as measured by octanol/water log P is 2.5 to 6.[166]

Eye. Models of corneal permeability are largely based on similar parameters sets. A fair linear correlation could be established between permeability and $\Delta\log P$ for a series of β-blockers and steroids, and a parabolic relationship was observed with octanol/water partition coefficients.[174] Nevertheless, eye permeation may be more complex as witnessed by specific literature not further discussed here.

Nasal Delivery. The rate and extent of nasal drug absorption may depend on many physicochemical fac-

tors including lipophilicity and molecular weight.[175] Monolayers of human nasal epithelial cells have been used to study the transport and metabolic properties of peptides delivered via the nasal route.[176] Further studies are necessary to establish correlations between in vitro permeabilities in cell cultures and nasal drug absorption in animals and humans.[176]

Optimization of Pharmacokinetics

Role of Pharmacokinetics. It is now clearly recognized that, in the majority of cases, a successful drug candidate requires not only potency and selectivity, but also a suitable pharmacokinetic profile. When traditional drug discovery was largely conducted in animal models, a pharmacokinetic component (albeit in an animal species) was built into the identification of candidate drug molecules. The move toward increased in vitro screening served to highlight the role of pharmacokinetics in in vitro/in vivo discrepancies. Furthermore, retrospective analysis conducted up to 1985 showed inappropriate pharmacokinetics to be the single major reason (39% of all cases) for attrition in drug development programs conducted by the seven U.K.-owned pharmaceutical companies at that time.[177] While adequate pharmacokinetic properties will be essential for drug efficacy, optimal properties provide further opportunity for differentiation from other class members and should be considered the ultimate goal. Indeed, highly favorable pharmacokinetic properties may confer an even greater advantage in ensuring that a drug actually works in clinical practice when the vagaries of patient compliance come into play. This aspect of drug behavior has been termed "forgiveness" and reflects the actual duration of effect after administration.[178] Variability in patient compliance often results in multi-day intervals between doses, hence the ability of a drug to remain efficacious under such regimes becomes highly testing. The long plasma elimination half-life (35 to 50 h) of amlodipine (**18**) provides two or more days of forgiveness. This implicit gain in reliability in use may well have contributed to the market success of this compound despite its relatively late entry into the calcium channel antagonist arena.

The pharmacokinetics of a drug molecule are key in determining the dose required to provide efficacy and the duration for which it remains effective. Both of these facets are influenced by the systemic clearance of the compound.

Clearance as a Determinant of Dose Size. The concentration of a drug at its site of action will determine the level of pharmacological activity. For drugs where the site of action is at the cell surface (e.g., seven-transmembrane spanner antagonists, ion channel modulators), the effective concentration can be regarded as the free drug level in the plasma. Indeed, for many other intracellular targets, the free drug concentration in plasma will be in direct equilibrium throughout the body at steady state. It is generally regarded that, for many receptor antagonists, a clinically significant pharmacological effect requires approximately 75% receptor occupancy.[179] Hence the target efficacious concentration to achieve in plasma can be established based on in vitro potency of a compound (75% receptor occupancy approximates to 3 × pA_2 or pKi).

For a given dose of compound, the rate of removal from the body will determine the actual "exposure" to the drug. After intravenous administration, this removal parameter is plasma clearance.

$$\text{plasma clearance (Cl)} = \frac{\text{dose}}{\text{area under the curve (AUC = "exposure")}}$$

where

$$\text{AUC} = \text{average plasma concentration} \times \text{dose interval}$$

Following an oral dose, the exposure (in terms of AUC) will be governed by the oral clearance of a drug, which will incorporate first-pass extraction by the liver. To take account of free drug levels, oral unbound clearance will determine the actual exposure to unbound drug, i.e., the therapeutically active concentration. Hence, by rearranging the equation above we can see that the dose required to give therapeutic drug levels is determined by the potency of the compound and the oral unbound clearance.

$$\text{dose} = \text{therapeutic concentration} \times \text{dose interval} \times \text{oral unbound clearance}$$

Thus, in order to forecast the dose of a novel oral agent required in the clinical setting, oral unbound clearance is the most important parameter that can be obtained from pharmacokinetic studies.

Clearance and Half-Life. The optimal dose interval for drug administration is often governed by the half-life of a compound. While compounds with wide therapeutic ratios may be more amenable to large variations in peak to trough concentrations in their plasma profiles, in general it is desirable to minimize these in order to prevent adverse effects. In addition, some compounds show a dissociation between pharmacokinetics and pharmacodynamics, hence maintained plasma concentrations are not essential for continued efficacy. However, in the majority of cases, it is desirable for the pharmacokinetic half-life to be sufficiently long to minimize variability in drug concentration and to provide drug levels sufficiently high to drive efficacy. The plasma half-life is in fact a hybrid term that is governed by two pharmacokinetic parameters, plasma clearance and volume of distribution according to the equation:

$$\text{half-life} = 0.693 \times \frac{\text{volume of distribution}}{\text{plasma clearance}}$$

Hence half-life can be increased either by increasing the volume of distribution or by reducing the plasma clearance of a compound. The calcium channel blocker, amlodipine, provides an excellent example whereby a very large volume of distribution (>20 L/kg) provides a long plasma elimination half-life (>30 h) despite a moderate plasma clearance (~7 mL/min/kg) in humans.[180] However, while a large volume of distribution can clearly be advantageous, it is often less amenable to manipulation within a drug discovery program, and hence reducing clearance is generally the first approach to extending half-life.

Clearance is therefore a fundamental property of drug molecules in determining the required dose and the

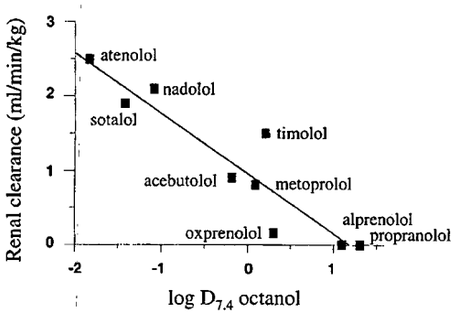


Figure 6. Correlation between lipophilicity (log $D_{7.4}$ values in octanol/water) and renal clearance in healthy human subjects for a series of β-adrenergic antagonists.

frequency of administration, which together may ultimately decide the clinical effectiveness of a new drug treatment.

Renal versus Metabolic Clearance. For the majority of drug molecules, two organs are responsible for clearance, namely the liver and kidney. Lipophilicity is a major determinant of route of clearance due to the dependence of renal clearance on membrane permeability. Renal clearance occurs via filtration of the aqueous component of blood at the kidney glomerulus followed by reabsorption of solutes across the kidney tubule. Compounds that are too polar to undergo reabsorption across this membrane will be eliminated in the urine. Octanol (log $D_{7.4}$) represents a very good mimic of the kidney tubule membrane and thus provides a reliable model of renal excretion. Compounds with log $D_{7.4}$ values above 0 will undergo near complete absorption while compounds with log $D_{7.4}$ values below 0 will be poorly reabsorbed and thus undergo considerable renal clearance. It should be noted that only drug that is not bound to plasma proteins is available to be filtered at the kidney glomerulus, hence plasma protein binding restricts renal clearance. This dependence of renal clearance on log D is exemplified by the series of β-adrenergic antagonists with log $D_{7.4}$ values ranging from about -2 to $+1$ as depicted in Figure 6. In this example, the polar analogues show negligible plasma protein binding while the most lipophilic examples (e.g., propranolol at 93%) show only moderate plasma protein binding. Hence, the unbound renal clearance of propranolol is also low at about 0.14 mL/min/kg.

Hence for hydrophilic compounds (log $D_{7.4} < 0$), renal clearance is an effective means of removal from the body. More lipophilic compounds, on the other hand, will be efficiently reabsorbed in the kidney tubule and will tend to undergo metabolism in order to render them more hydrophilic. Hence the primary role of metabolism is to convert lipophilic molecules capable of crossing biological membranes into polar molecules readily eliminated in the urine. Thus propranolol is mainly eliminated by metabolism[181] with metabolic clearance vastly in excess of renal clearance at about 12 mL/min/kg in humans[182] and accounting for 99% of total clearance.[183]

Pharmacokinetic Scaling from Animals to Humans. To forecast the clinical pharmacokinetic properties of novel compounds, it is necessary to extrapolate from animal or in vitro data to human parameters. Much of the interspecies variation in pharmacokinetic properties can be explained as a consequence of body size. Consequently, it is possible to scale pharmacokinetic parameters to the organism's individual anatomy, biochemistry, and/or physiology in such a manner that differences between species are nullified. Such a process of scaling is referred to as allometry. This approach has been extensively reviewed in its application to the forecasting of pharmacokinetic properties of drug molecules.[184–187] Allometric relationships provide an equation of the general form

$$\text{pharmacokinetic parameter} = A \times \text{BW}^a$$

where A is the coefficient (i.e., the intercept on the y-axis of logarithmically transformed data), BW is the body weight, and a is the power function (slope of the line). This method has been extremely successful for the forecasting of pharmacokinetic parameters that are dependent on blood flow and tissue mass, such as renal clearance and volume of distribution, respectively. Hence for compounds cleared extensively by renal clearance, animal pharmacokinetic data can provide accurate predictions of human pharmacokinetics. An excellent example is the antifungal agent, fluconazole, which is excreted more than 90% as unchanged drug in urine.[188]

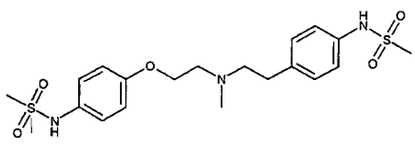
Prediction of Hepatic Metabolic Clearance. The majority of oral drugs are sufficiently lipophilic to enable absorption; this tends to lead to metabolism as the predominant clearance mechanism. Since the liver is the major organ for drug metabolism, a prediction of human hepatic clearance is of great value in candidate drug selection. As already discussed, clearance overall is of prime importance in determining the therapeutic dose size and frequency of a novel compound. Large differences often exist between the metabolic clearance observed in individual species. This limits the utility of a simple allometric approach to the scaling of this parameter to humans. Over recent years the availability of human tissue has increased, and in vitro data generated using this tissue has been shown to accurately predict in vivo clearance. The extrapolation from in vitro to in vivo metabolic clearance in the rat was extensively evaluated using a database of 25 drugs.[189] While hepatocytes were more accurate predictors of high clearance drugs, both hepatocytes and liver microsomes could be scaled satisfactorily. Such extrapolations have also been applied to human metabolic clearance for compounds, including felodipine (**19**)[190] and dofetilide (**6**).[191] The latter example demonstrates the need to know the overall metabolic fate of the molecule in order to scale from in vitro to in vivo intrinsic clearance. Dofetilide (**6**) is metabolized predominantly by N-dealkylation of the tertiary nitrogen, giving rise to three secondary amine products. In the in vitro kinetic studies, only the *N*-desmethyl metabolite was monitored; however, additional in vitro studies were performed to show that this product represented about one-third of the total metabolism in all species. Only when fractional clearance by this pathway was multiplied by 3, to account for the other routes of metabolism, did the in vitro data provide a reliable indicator of in vivo metabolic clearance (Table 1).

The ability of in vitro systems to accurately reflect in vivo metabolic clearance justifies the use of these techniques in early drug discovery programs. However,

Table 1. Scaling in Vitro Metabolism Kinetic Data for Dofetilide to in Vivo Metabolic Clearance[191]

species	V_{max} (pmol/min/mg)	K_M (μM)	intrinsic clearance (mL/min/g)[a]	extrapolated in vivo clearance by N-demethylation (ml/min/kg)[b]	extrapolated in vivo clearance by all pathways (mL/min/kg)[c]	actual in vivo metabolic clearance (mL/min/kg)[d]
male rat	1571	242	6.49	13.16	39.5	58
female rat	358	96	3.73	7.57	22.7	29
dog	127	134	0.95	1.93	5.8	7.2
human	175	657	0.25	0.51	1.5	1.5

[a] Intrinsic clearance = V_{max}/K_M. [b] Using scaling factors.[189] [c] Incorporation of routes other than N-demethylation which was one-third of the total. [d] Reference 192.



6 (Dofetilide)

at the time these studies are conducted, it is unlikely that the overall metabolic fate will be known, hence it is not possible to scale from in vitro to in vivo total intrinsic clearance. Here the objective is to screen for metabolically "stable" compounds within a chemical series in order to incorporate stability into the candidate selection.[193] This will normally be performed by monitoring the disappearance of parent compound without necessarily knowing the structure of the metabolic products. These systems can identify compounds or series of compounds that are resistant to oxidative and/or conjugative metabolism. The choice of system may depend on the chemical series and potential routes of metabolism based on the structure of the molecules. Use of such systems assumes that metabolic clearance will be a limiting factor in systemic exposure. While other factors, such as absorption and plasma protein binding, may clearly play an additional role, minimizing metabolic clearance at an early stage will generally be advantageous. The relatively high throughput of in vitro metabolism systems coupled with advances in analytical technologies in terms of HPLC[194] and mass spectrometric detection[195] allow for rapid assessment at earlier and earlier stages of the drug discovery process. However, it is often prudent to establish an in vitro–in vivo correlation at an early stage in order to support the use of the in vitro system. Analysis using multivariate statistical techniques and artificial neural networks has indicated that human hepatocyte data are a more accurate predictor of in vivo human metabolic clearance than clearance data obtained from animals.[196] However, this analysis was performed on a very limited data set, and a drastically increased number of compounds would be needed to fully evaluate this approach.

One aspect of in vitro metabolism systems, which has yet to be fully assessed, is the impact of nonspecific binding to the tissue preparation. Fundamentally, the intrinsic clearance of the unbound drug in vitro is considered to translate to the intrinsic clearance in vivo.[197] However, when plasma protein binding has been incorporated into clearance extrapolations, it has often yielded a poorer prediction, especially for drugs with high plasma protein binding.[198] It has been suggested that this results from a similar extent of binding in the in vitro preparation, hence underestimating intrinsic clearance in this preparation but canceling out the plasma protein binding in the extrapolation. In the previously mentioned extrapolations for felodipine[190] and dofetilide,[191] tissue binding was shown to be similar to plasma protein binding, and therefore both binding factors could be disregarded in scaling. A study which specifically examined this aspect demonstrated markedly different binding characteristics for basic and acidic drugs.[199] This showed that while serum-free fractions of the basic drugs, propranolol and imipramine, were relatively high (12% and 6%, respectively), their free fractions in microsomes were of a similar magnitude (38% and 16%, respectively). In contrast, the acidic drug warfarin showed a much lower serum-free fraction (0.8%), but minimal microsomal binding (free fraction of 73%). While the in vivo clearance of the basic drugs was relatively well predicted without consideration of the binding in either serum or microsomes, an accurate extrapolation was only obtained for warfarin when binding in both was included. Given the limited number of compounds examined in this study, it cannot be concluded that relative levels of microsomal and plasma/serum binding only need to be considered for acidic drugs, and clearly more data are necessary. Based on the belief that microsomal binding of bases is to the lipid fraction, there is clearly a possibility for vast differences between microsomal and plasma binding to occur. It does, however, indicate that simply screening for metabolic stability may not always provide a direct correlate to in vivo metabolic clearance.

Strategies To Reduce Metabolic Clearance. The strategies to reduce metabolic clearance normally concentrate on a "global" and a functionality level. Reduction of lipophilicity normally accompanies a reduction in metabolic clearance, although there is considerable variation in this correlation. The correlation follows because most drug metabolizing enzymes (such as cytochrome P-450's) have lipophilic binding sites. A more elegant solution is to remove or alter the functionality associated with the rapid rate of metabolism. Four examples are shown in Figure 7. The examples shown focus on the following:

(i) the lability of benzyllic and allylic positions to cytochrome P450 metabolism (particularly CYP3A4) and the use of halogen atoms (particularly fluorine and chlorine) to block oxidation. Metabolic attack of the lead structure included benzylic hydroxylation. This was addressed by substituting oxygen (**8**) for the C-3′ carbon (**7**) to remove this site of metabolism. This step, however, produces an electron-rich phenoxy moiety which is susceptible to para-aromatic hydroxylation. Blocking of the aromatic oxidation with fluorine introduced in the para position was required to produce the eventual more stable substitution.[200]

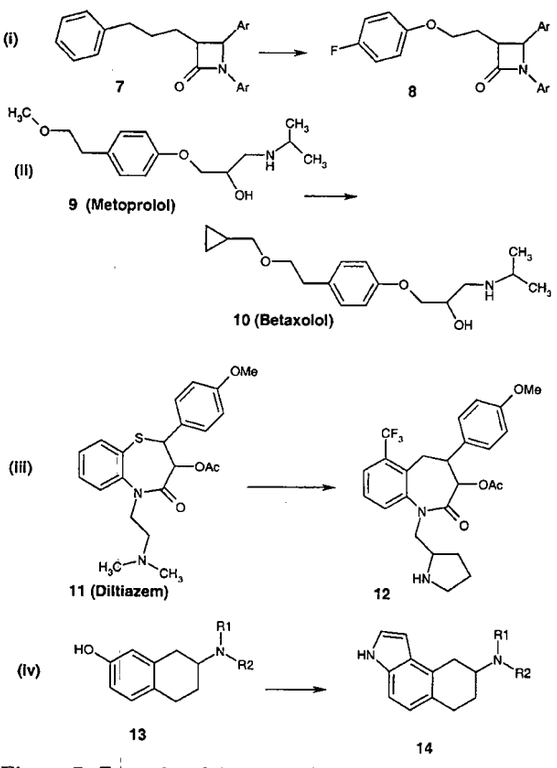


Figure 7. Examples of changes in functionality that attenuate metabolism. The positions of metabolism are marked with an asterisk, and the numbering of the examples relates to the text. Examples i, ii, and iii relate to oxidative metabolism, and example iv relates to conjugation.

(ii) the use of stable functions to create steric factors that do not allow the compound to bind efficiently to the active site of a particular enzyme. Cardioselectivity for β-adrenoceptor agents can be conferred by substitution in the para position of the phenoxy-propanolamine skeleton. The methoxyethyl substituents of metoprolol (**9**) are the major site of metabolism. This reaction is catalyzed by CYP2D6, and the efficiency of the enzyme means that metoprolol shows high clearance. Beside the actual steric bulk of the substituent, which prevents efficient binding to the enzyme, cyclopropyl in betaxolol (**10**) is much more stable to hydrogen abstraction than other alkyl functions and represents an ideal terminal group.[201]

(iii) steric and electronic stabilization of a function to oxidative attack by cytochrome P450. Diltiazem (**11**), a calcium channel blocker, is rapidly metabolized by distinct N-demethylation pathways, by CYP3A4. This was improved through substitution of the benzazepinone ring structure for the benzothiazepinone of diltiazem (**12**).[202] Metabolism studies on this class of compound showed that the principal routes of metabolism were similar to that for diltiazem, and the *N*-desmethyl derivative was equipotent to the parent but much more metabolically stable. This reflects decreased substitution on the nitrogen (2° vs 3°), stabilizing the nitrogen to electron abstraction (decreased radical stability). This stabilization is particularly important, since the electron abstraction is the first step in N-demethylation. The *N*-1 pyrrolidinyl derivatives achieve metabolic stability by the decreased radical stability of secondary compounds to tertiary amines and additionally by steric hindrance afforded by β-substitution.[202]

(iv) use of bioisosteres (such as indole) to replace phenolic functions labile to conjugation processes by glucuronyl transferases. 7-Hydroxy-(amino) tetralin analogues (**13**) are potent agonists of the dopamine receptor. These compounds have very low bioavailability and short duration due to extremely rapid glucuronidation.[203] Substitution of the phenolic hydroxy group with a pyrrolo ring gives a compound series (**14**) with a suitable H-bond donor in the correct position but resistant to glucuronidation.

Volume of Distribution. As previously mentioned, volume of distribution, along with clearance, determines the half-life of a drug molecule (half-life = 0.693 × volume/clearance) and thus will influence the dosing interval. However, as also stated, this parameter is often less amenable to manipulation in a drug discovery program. Part of the reason for this lies in the fact that there is a trend for increasing volume of distribution with increasing lipophilicity.[179] Hence raising the log $D_{7.4}$ to increase the volume of distribution will also tend to increase the susceptibility to metabolic clearance and thus will often be counterproductive. Thus, as metabolic clearance is more dependent on functional groups and substitution patterns, it is often the easier target in a rational drug discovery program.

The presence of charged functions within molecules has a major impact on their volume of distribution. In general, basic compounds have the largest volumes of distribution, and acidic molecules have the smallest. Hence basic compounds which are predominantly present in the tissues will not be available to the organs of elimination (liver and kidney), while a greater proportion of acidic compounds, which are predominantly located in the plasma, will be delivered to these organs. Basic drugs tend to have large volumes of distribution due to favorable interaction with phospholipid membranes. The acidic headgroups of the phospholipid form ion-pair interactions with the basic centers, and thus support the distribution of the ionized drug into the membrane. Acidic drugs, on the other hand, require the unionized drug to partition into the lipophilic membrane, which, given typical pK_a values in the range 3−5 for most organic acids, tends to be unfavorable. In addition, acidic compounds form ionic interactions with the lysine residues on albumin which is present at high concentration in blood. Drug bound to plasma protein is unavailable for distribution, hence limiting tissue penetration of acids. The binding of acidic drugs to albumin is also dependent on lipophilicity, hence lipophilic acids will tend to bind very extensively (e.g., ibuprofen, 99.5% plasma protein bound) and will exhibit volumes of distribution close to plasma or blood volume (0.1 to 0.2 L/kg). Neutral drugs tend to show distribution characteristics between those of acids and bases. Increasing lipophilicity will increase tissue affinity and also affinity for plasma protein, which will restrict movement out of the blood compartment. The overall trend, as with acids and bases, is for volume of distribution to increase with log *D*.

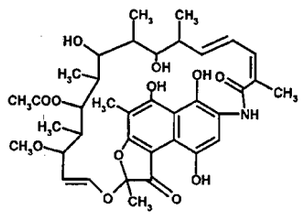
When a prolongation of the pharmacokinetic half-life is a target, the role of the volume of distribution needs

Table 2. Comparison of Pharmacokinetic Properties of of Rifamycin (**15**), Rifampicin (**16**), and Rifabutin (**17**)[a]

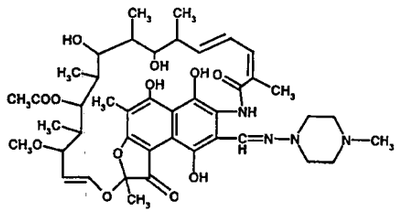
compound	volume of distribution (L/kg)	clearance (mL/min/kg)	half-life (h)
rifamycin	1.2	80	0.33
rifampicin	8.8	32	3.5
rifabutin	266	80	45

[a] Volume of distribution (V_d) and plasma clearance (Clp) are for free unbound drug.

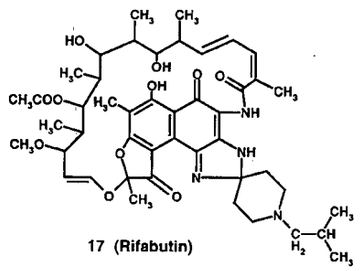
to be considered. If the pharmacological target will accept basic centers within a molecule, then these will generally provide an increase in volume of distribution compared to neutral or basic molecules. This strategy has been followed inadvertently by the medicinal chemist in the search for better solubility. An example of this is the discovery of the series of drugs based on Rifamycin SV [204] (**15**). This compound was one of the first drugs with high activity against *Mycobacterium tuberculosis*. It was not of much utility in the clinical performance due to poor solubility and, hence, dissolution, oral absorption, and a very short duration of action. Many different analogues were produced, including the introduction of basic functions with a goal of increased solubility, until ultimately rifampicin (**16**), a methylpiperazinyl amino methyl derivative, was discovered with much better duration and a successful drug. The basic functionality, however, does not alter clearance but increases volume substantially (Table 2). Duration was enhanced further by the more basic spiropiperidyl analogue, rifabutin (**17**). Again the desirable pharmacokinetic and pharmacodynamic properties are due to effects on volume rather than effects on clearance.



15 (Rifamycin)



16 (Rifampicin)



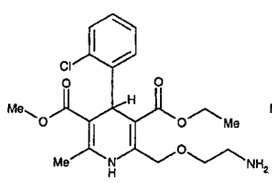
17 (Rifabutin)

Table 3. Comparison of Pharmacokinetic Properties of the Basic Dihydropyridine Calcium Channel Blocker, Amlodipine (**18**), with Neutral Compounds Felodipine (**19**), Nifedipine (**20**), and Nitrendipine (**21**)

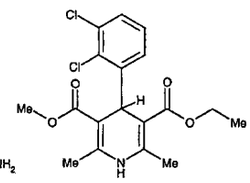
compound	log $D_{7.4}$[a]	volume of distribution (L/kg)	clearance (mL/min/kg)	half-life (h)
amlodipine[205]	1.8	21.4	7.0	33.8
felodipine[206]	4.8	9.7	11.8	10.2
nifedipine[207]	3.2	1.0	8.4	1.9
nitrendipine[208]	4.2	3.8	21	4.0

[a] Medchem database (Daylight Chemical Information Systems, Claremont, CA).

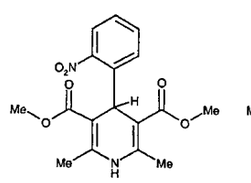
Another striking example is included in the dihydropyridine calcium channel blockers. The basic center of amlodipine (**18**) provides a clear pharmacokinetic advantage over neutral molecules such as felodipine (**19**), nifedipine (**20**), and nitrendipine (**21**). The volume of amlodipine is increased despite an overall reduction in log $D_{7.4}$ (Table 3) in comparison to the other agents. This also serves again as a pharmaceutical advantage in terms of solubility. However, the constraints of pharmacological SAR will often limit the scope of such modifications, hence clearance remains the first line of pharmacokinetic manipulation in most drug discovery programs.



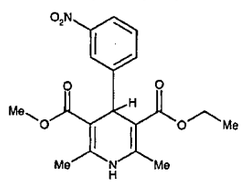
18 (Amlodipine)



19 (Felodipine)



20 (Nifedipine)



21 (Nitrendipine)

Plasma Protein Binding Considerations. Appreciation of free drug exposure is key to understanding the potential efficacy of novel compounds. However, plasma protein binding alone cannot be regarded as either a positive or a negative aspect of a compound. Only when placed into context with pharmacokinetic parameters can valuable insight into the disposition of the molecule be obtained. While it may initially appear that minimal protein binding will increase the efficacious concentration of drug, it will also increase the effective concentration available to the organs of elimination. For example, examine the hypothetical situation where the only property changed within a molecule is the plasma protein binding from 90% to 99% (i.e., free fractions of 0.1 and 0.01, respectively). If this compound had a plasma clearance of 10 mL/min/kg due to hepatic metabolism, the intrinsic unbound clearance would in fact be 100 mL/min/kg. The effect of increased plasma protein binding would not change the intrinsic ability of the liver to clear the compound, and this would remain at 100 mL/min/kg, despite plasma clearance

reducing to 1 mL/min/kg. The overall exposure to unbound drug would also remain constant (AUC_u = dose/Cl_{iu}), for a given dose. The reduction in plasma clearance may initially appear to offer a longer elimination half-life ($t_{1/2} = 0.693 V_d/Cl$). However, as only free drug is available for distribution, the total volume of distribution (V_d) will also be reduced by a factor of 10, resulting in the same elimination half-life (in fact if volume of distribution of unbound drug was considered, this, like unbound clearance, remains unchanged). Hence the overall impact of changing plasma protein binding alone is neutral. An exception to this occurs for compounds such as carboxylic acids where the volume of distribution is already limited to the plasma or blood volume (0.1 to 0.2 L/kg). As volume of distribution is already minimal, an increase in plasma protein binding can reduce total drug clearance but leave the volume unchanged, hence extending the half-life. Again, however, the overall exposure to free drug remains the same (AUC_u = dose/Cl_{iu}), although the shape of the plasma concentration time curve will be altered.

It is important to consider differences in plasma protein binding that may occur between species in order to relate pharmacokinetic parameters to safety and efficacy. This is highlighted by the example of zamifenacin, a lipophilic and basic M3 muscarinic antagonist.[209] On the basis of total drug concentration, oral clearance of this compound in humans (0.6 mL/min/kg) was substantially lower than equivalent values in rat (61 mL/min/kg) and dog (26 mL/min/kg). This resulted in markedly higher total drug concentration with dose normalized C_{max} in human 74 and 40 times rat and dog, respectively. However, the free fraction of drug in human plasma (0.01%) was markedly lower than dog (0.1%) and rat (0.2%). Hence free C_{max} values in human were only 8 and 4-fold higher than rat and dog, respectively, on a similar dose normalized basis. In addition, the correlation between pharmacological response in animals and humans was consistent with free drug exposure. Without knowledge of the variation in plasma protein binding across the species, such rationalization of the pharmacodynamics of zamifenacin would not have been possible.

Prodrug Design. A number of successful drugs are on the market in which oral absorption and pharmacokinetics have been improved through the design of prodrugs.[210] A related approach is called soft drug design, where the goal is to integrate metabolism considerations into the drug design process.[211] Important criteria of good products include, among others, stability in the gut and rapid biotransformation to the active parent. On the basis of recent progress and understanding of the role of physicochemical properties, it can be expected that these will be used more in prodrug design than in the past. An example of such an approach is the study of 5-fluoruracil prodrugs in Caco-2 cells.[212]

Prediction of Metabolism

Compounds with either too high or too low clearance, depending on a project's objective, need to be tailored by medicinal chemistry. Therefore, the development of predictive methods for biotransformation is getting increasing attention, so that this input ultimately can be used even at the stage of library design to prevent a flawed template from impacting a whole series. Different techniques are being explored, including QSAR[213] and neural networks, pharmacophore models,[214,215] and protein models.[215,216] Some of these approaches may be combined in an expert system, such as Meteor, Meta, and Metabolexpert.

Examples of the influence of physicochemical properties including lipophilicity on metabolism,[217-219] particularly associated with N-oxidation[220] and glucuronidation,[221] have been discussed. These relationships generally are merely trends rather than real statistically relevant and widely applicable correlations.[219] Another approach consists of the assessment of reaction energetics to predict cytochrome P450-mediated reactions.[222] It is expected that in the future a further increase will be seen in applications of predictive metabolism based on a combination of approaches.

Future Directions

High-throughput screening and combinatorial chemistry have made it possible to increase the chances to find a hit within a drug discovery program. Such a hit can then be further developed into clinical candidates using traditional medicinal chemistry or again some automated process using parallel synthesis. Nevertheless, attrition of the eventual development candidates is still very high, mainly due to toxicity and/or poor PK properties.

Drug design has now come to a stage where an integrated approach including structure-based design and property-based design become the basic concept in the pharmaceutical industry. One expression of this is that, in most companies, departments of Drug Metabolism and Pharmacokinetics have moved from Development to Discovery. Another sign is the fact that most companies now have facilities to measure a number of properties identified as the sources of attrition when these have not previously been addressed in an early phase. Key among these properties are solubility, permeability, absorption, chemical and metabolic stability, and toxicity. In recent years, insight has grown that many of these properties are in some way related to molecular size and hydrogen bonding of the compounds, two simple and appealing properties that the medicinal chemist can manipulate. A challenge will be to define the most appropriate descriptors for both molecular size (e.g., molecular weight versus molar volume) and hydrogen bonding. This appropriateness may well depend on the property one may wish to estimate. Lipophilicity, often expressed by the octanol/water distribution coefficient, is also a combination of these two fundamental physicochemical properties. Various attempts have been made to use other lipophilicity scales, but none have as yet made a breakthrough in the drug design process. Despite the lack of agreed utility, some parameters may have merits for the description of particular distribution phenomena, e.g., the use of $\Delta \log D$ for the prediction of CNS penetration.[110]

On the basis of the findings that simple physicochemical properties correlate with oral absorption, a number of in silico models of varying complexity have been developed to estimate gastrointestinal absorption and brain uptake. Though appealing because of their high-

throughput nature, such methods are often limited to compounds with simple permeation behavior. Today's approaches do not yet account for the effects of transporter proteins involved in active uptake and efflux mechanisms.

In vitro metabolism systems are now routinely employed in the drug discovery phase, and the use of artificial neural networks has shown the potential for these studies to reliably predict human metabolic clearance, albeit in a limited number of examples. Good correlation has been demonstrated between in vitro and in vivo clearance modulated by cytochrome P450 metabolism, especially within chemical series. However, reliable prediction of in vivo clearance modulated by other enzyme systems has been less clearly demonstrated. In addition, routine in vitro tools are not yet available to reliably predict tissue distribution and carrier-mediated tissue uptake and excretion—important contributors to the overall pharmacokinetic profile of a novel compound. Until such tools are available, there remains a need for relatively low-throughput animal studies to extrapolate the likely clinical pharmacokinetic profile. Increasingly, our understanding of the underlying physiological processes contributing to this overall profile allow these in vivo studies to be augmented with appropriate in vitro studies and/or physicochemical measurements to identify optimal compounds. Further growth in this knowledge can only increase the use of in vitro techniques in the future.

Despite this progress, the estimation of human absorption and appropriate dose is often problematic. We are only just seeing the first attempts to predict bioavailability from molecular structure. Larger databases of both oral absorption and bioavailability data are needed to underpin such models. Since bioavailability is the result of several additive complex processes, it is unclear currently which mathematical model(s) is (are) most suited for its prediction. Estimations by their nature will always contain errors; the question for the future will be how small we can make these. We expect that further understanding of the role of various transporters in gastrointestinal absorption and hepatic uptake processes will eventually contribute to better PK predictions.

Conclusions

A rapid increase in the understanding of membrane permeation and absorption processes has recently been seen. The finding that permeability can be related to various physicochemical properties has led to the concept of property-based design. The well-known rule-of-5 is a quantitative representation of this concept. Physicochemical properties can be used in the optimization of pharmacokinetics. It is also recognized that much needs to be learned about transporters influencing either active uptake or efflux of orally administered drugs. In addition, it will be important to understand the role of gut wall metabolism and to develop screens to assess its extent. We expect further developments in the field of computational ADME studies (e-ADME) in the years to come.

Biographies

Han van de Waterbeemd studied physical organic chemistry at the Technical University of Eindhoven, The Netherlands, and received a Ph.D. in medicinal chemistry at the University of Leiden, The Netherlands. After doing postdoctoral work at the School of Pharmacy of the University of Lausanne, Switzerland, he held a faculty position at the same institution. He taught medicinal chemistry to pharmacy students at the Universities of Berne and Basel in Switzerland from 1987 to 1997. In 1988, he joined F. Hoffmann-La Roche Ltd. in Basel and moved to Pfizer Central Research UK in 1997. He is director in the Department of Drug Metabolism. His current research interests include studies of molecular properties and their role in drug disposition. Han is secretary of The QSAR and Modelling Society.

Dennis A. Smith has worked in the pharmaceutical industry for the past 25 years since gaining his Ph.D from the University of Manchester following research on the metabolism of diacetylmorphine. For the last 13 years he has been at Pfizer Global Research and Development, Sandwich, where he is Executive Director of the Drug Metabolism Department. Prior to this he was Head of the Metabolism and Pharmacokinetics Unit at Fisons Pharmaceuticals, Loughborough. Initially his interest centered on the metabolism of foreign compounds; however, this soon extended to the rapidly growing area of pharmacokinetics. For the past decade he has been active in promoting the combined use of both pharmacokinetic and metabolism data to help understand the relationship between a compound's disposition in animal species and that in humans. His interests also include the underlying structural and physicochemical characteristics of compounds, which determine their disposition. He has been a committee member of various drug metabolism groups including ISSX, DMDG, and PK/UK and is on the editorial board of *Xenobiotica*. He is active in a teaching role, holding appointments as Visiting Professor at the University of Liverpool and Honorary Senior Lecturer at the University of Aberdeen. His work in training clinical pharmacologists has been recognized by an honorary membership of the British Association of Pharmaceutical Physicians.

Kevin Beaumont studied biochemistry at London University. In 1983, he joined Pfizer Central Research in the Department of Drug Metabolism where he is now Manager. Throughout his career at Pfizer, he has been involved in the study of disposition of novel compounds from first chemical synthesis through late stage development. His current interests include the effects of excretory transporters, particularly P-glycoprotein, on the disposition of discovery compounds.

Don K. Walker studied biochemistry and chemistry at London University. Between 1981 and 1984, he was involved in research into the detection and characterization of inborn errors of metabolism at University College Hospital, London. In 1986, he joined Pfizer Central Research UK. His current role as Manager and Head of Pre-Clinical Development in the Department of Drug Metabolism includes all aspects of drug metabolism from early discovery to post-marketing. He has been a committee member of the UK Drug Metabolism Discussion Group since 1996.

References

(1) Collander, R.; Bärlund, H. Permeabilitätsstudien an Chara eratophylla. *Acta Bot. Fenn.* **1932**, *11*, 72−114.
(2) Sha'afi, R. I.; Gary-bobo, C. M.; Solomon, A. K. Permeability of red cell membranes to small hydrophilic and lipophilic solutes. *J. Gen. Physiol.* **1971**, *58*, 238−258
(3) Ajay; Walters, W. P.; Murcko, M. A. Can we learn to distinguish between "drug-like" and nondrug-like" molecules? *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 3314−3324.
(4) Sadowski, J.; Kubinyi, H. A scoring scheme for discriminating between drugs and nondrugs. *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 3325−3329.
(5) Wagener, M.; Van Geerestein, V. J. Potential drugs and nondrugs: prediction and identification of important structural features. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **2000**, *40*, 280−292.
(6) Ajay; Bemis, G. W.; Murcko, M. A. Designing libraries with CNS activity. *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 4942−4951.
(7) Lipinski, C. A.; Lombardo, F.; Dominy, B. W.; Feeney, P. J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv. Drug Delivery Rev.* **1997**, *23*, 3−25.

(8) Pagliara, A.; Resist, M.; Geinoz, S.; Carrupt, P.-A.; Testa, B. Evaluation and prediction of drug permeation. *J. Pharm. Pharmacol.* **1999**, *51*, 1339−1357.

(9) Sternberg, P.; Luthman, K.; Ellens, H.; Lee, C. P.; Smith, Ph. L.; Lago, A.; Elliott, J. D.; Artursson, P. Prediction of the intestinal absorption of endothelin receptor antagonists using three theoretical methods of increasing complexity. *Pharm. Res.* **1999**, *16*, 1520−1526.

(10) Ghose, A. K.; Viswanadhan, V. N.; Wendoloski, J. J. A knowledge-based approach in designing combinatorial or medicinal chemistry libraries for drug discovery. 1. A qualitative and quantitative characterization of known drug databases. *J. Comb. Chem.* **1999**, *1*, 55−68.

(11) Oprea, T. L. Property distribution of drug-related chemical databases. *J. Comput.-Aided Mol. Des.* **2000**, *14*, 251−264.

(12) Blake, J. F. Chemoinformatics − predicting the physicochemical properties of "drug-like" molecules. *Curr. Opin. Biotechnol.* **2000**, *11*, 104−107.

(13) Hann, M. M. Considerations for the use of computational chemistry techniques by medicinal chemists. In *Medicinal Chemistry. Principles and Practice*; King, F. D., Ed.; RSC: Cambridge, 1994; pp 130−142.

(14) Vacca, J. P.; Dorsey, B. D.; Schleif, W. A.; Levin, R. B.; McDaniel, S. L.; Darke, P. L.; Zugay, J.; Quintero, J. C.; Blahy, O. M.; Roth, E.; Sardana, V. V.; Schlabach, A. J.; Graham, P. L.; Condra, J. H.; Gotlib, L.; Holloway, M. K.; Lin, J.; Chen, I. W.; Vastag, K.; Ostovic, D.; Anderson, P. S.; Emini E. A.; Huff, J. R. L-735,524: an orally bioavailable human immunodeficiency virus type 1 protease inhibitor. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1994**, *91*, 4096−4100.

(15) Dressman, J. B.; Amidon, G. L.; Reppas, C.; Shah, V. P. Dissolution testing as a prognostic tool for oral drug absorption: Immediate release dosage forms. *Pharm. Res.* **1998**, *15*, 11−22.

(16) Amidon, G. L.; Lennernas, H.; Shah, V. P.; Crison, J. R. A. Theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: The correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. *Pharm. Res.* **1995**, *12*, 413−420.

(17) Van de Waterbeemd, H. The fundamental variables of the biopharmaceutics classification system (BCS): a commentary. *Eur. J. Pharm. Sci.* **1998**, *7*, 1−3.

(18) Reeves, P. R.; Barnfield, D. J.; Logshaw, S.; McIntosh, D. A. D.; Winrow, M. J. Disposition and metabolism of atenolol in animals. *Xenobiotica* **1978a**, *8*, 305−311.

(19) McAinsh, J.; Holmes, B. F. Pharmacokinetic studies with atenolol in the dog. *Biopharm. Drug Dispos.* **1983**, *4*, 249−261.

(20) Reeves, P. R.; McAinsh, J.; McIntosh, D. A. D.; Winrow, M. J. Metabolism of atenolol in man. *Xenobiotica* **1978b**, *8*, 313−320.

(21) Marten, T. R.; Bourne, G. R.; Miles, G. S.; Shuker, B.; Rankine, H. D.; Dutka, V. N. The metabolism of ICI 118,587, a partial agonist of β_1-adrenoceptors, in mice, rats, rabbits, dogs and humans. *Drug Metab. Dispos.* **1984**, *12*, 652−660.

(22) Bastain, W.; Boyce, M. J.; Stafford, L. E.; Morton, P. B.; Clarke, D. A.; Marlow, H. F. Pharmacokinetics of xamoterol after intravenous and oral administration to volunteers. *Eur. J. Clin. Pharm.* **1988**, *34*, 469−473.

(23) He, Y.-L.; Murby, S.; Warhurst, G.; Gifford, L.; Walker, D.; Ayrton, J.; Eastmond, R.; Rowland, M. Species differences in size discrimination in the paracellular pathway reflected by oral bioavailability of poly(ethylene glycol) and D-peptides. *J. Pharm. Sci.* **1998**, *87*, 626−633.

(24) Van Asperen, J.; Van Tellingen, O.; Beijnen, J. H. The pharmacological role of P-glycoprotein in the intestinal epithelium. *Pharm. Res.* **1998**, *37*, 429−435.

(25) Thummel, K. E.; Kunze, K. L.; Shen, D. D. Enzyme catalysed processes of first-pass hepatic and intestinal drug extraction. *Adv. Drug Delivery Rev.* **1997**, *27*, 99−127.

(26) Lown, K. S.; Ghosh, M.; Watkins, P. B. Sequences of intestinal and hepatic cytochrome P450 3A4 cDNAs are identical. *Drug Metab. Dispos.* **1998**, *26*, 185−187.

(27) Lampen, A.; Zhang, Y.; Hackbarth, I.; Benet, L. Z.; Sewing, K.-F.; Christians, U. Metabolism and transport of the macrolide immunosuppresant sirolimus in the small intestine. *J. Pharm. Exp. Ther.* **1998**, *285*, 1104−1112.

(28) Juliano, R. L.; Ling, V. A surface glycoprotein modulating drug permeability in chinese hamster ovary cell mutants. *Biochim. Biophys. Acta* **1976**, *455*, 152−162.

(29) Thiebaut, F.; Tsuro, T.; Hamada, H.; Gottesman, M. M.; Pastan, I.; Willingham, M. C. Cellular localisation of the multidrug resistance gene product P-glycoprotein in normal human tissues. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1987**, *84*, 7734−7738.

(30) Wacher, V. J.; Silverman, J. A.; Zhang, Y.; Benet, L. Z. Role of P-glycoprotein and cytochrome P450 3A in limiting oral absorption of peptides and peptidomimetics. *J. Pharm. Sci.* **1998**, *87*, 1322−1330.

(31) Lown, K. S.; Fontana, R. J.; Schmiedlin-Ren, P.; Turgeon, D. K.; Watkins, P. B. Interindividual variation in intestinal mdr1 expression: lack of shortOLINIT-term diet effects. *Gastroenterology* **1995**, *108*, A737.

(32) Suzuki, H.; Sugiyama, Y. Role of metabolic enzymes and efflux transporters in the absorption of drugs from the small intestine. *Eur. J. Pharm. Sci.* In press.

(33) Seelig, A.; Li, X.; Wohnsland, F. Substrate recognition by P-glycoprotein and the multidrug resistance-associated protein MRP1: a comparison. *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.* **2000**, *3*, 111−121.

(34) Hebert, M. F. Contributions of hepatic and intestinal metabolism and P-glycoprotein to cyclosporine and tacrolimus oral drug delivery. *Adv. Drug Delivery Rev.* **1997**, *27*, 201−214.

(35) Hall, S. D.; Thummel, K. E.; Watkins, P. B.; Lown, K. S.; Benet, L. Z.; Paine, M. F.; Mayo, R. R.; Turgeon, D. K.; Bailey, D. G.; Fontana, R. J.; Wrighton, S. A. Molecular and physical mechanisms of first pass extraction. *Drug Metab. Dispos.* **1999**, *27*, 161−166.

(36) Lown, K. S.; Mayo, R. R.; Leichtman, A. B.; Hsiao, H.; Turgeon, D. K.; Schmiedlin-Ren, P.; Brown, M. B.; Guo, W.; Rossi, S. J.; Benet, L. Z.; Watkins, P. B. Role of intestinal P-glycoprotein (mdr1) in interpatient variation in the oral bioavailability of cyclosporine. *Clin. Pharmacol. Ther.* **1997**, *62*, 248−60.

(37) Fricker, G.; Drewe, J.; Huwyler, J.; Gutmann, H.; Beglinger, C.. Relevance of P-glycoprotein for the enteral absorption of cyclosporin A: *in vitro-in vivo* correlation. *Br. J. Pharm.* **1996**, *118*, 1841−1847.

(38) Seelig, A. A general pattern for substrate recognition by P-glycoprotein. *Eur. J. Biochem.* **1998**, *251*, 252−261.

(39) Seelig, A.; Landwojtowicz, E. Structure−activity relationship of P-glycoprotein substrates and modifiers. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2000**, *12*, 31−40.

(40) Österberg, Th.; Norinder, U. Theoretical calculation and prediction of P-glycoprotein-interacting drugs using MolSurf parametrization and PLS statistics. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2000**, *10*, 295−303.

(41) Smith, D. A.; Jones, B. C. Speculations on the substrate structure−activity relationship (SSAR) of cyochrome P450 enzymes. *Biochem. Pharm.* **1992**, *44*, 2089−2098.

(42) Ito, K.; Kusuhara, H.; Sugiyama, Y. Effects of intestinal CYP3A4 and P-glycoprotein on oral drug absorption − Theoretical approach. *Pharm. Res.* **1999**, *16*, 225−231.

(43) Lee, C. G.; Gottesman, M. M.; Cardarelli, C. O.; Ramachandra, M.; Jeang, K. T.; Ambudkar, S. V.; Pastan, I.; Dey, S. HIV-1 protease inhibitors are substrates for the MDR1 Multidrug transporter. *Biochemistry* **1998**, *37*, 3594−3601.

(44) Kim, R. B.; Fromm, M. F.; Wandel, C.; Leake, B.; Wood, A. J.; Roden, D. M.; Wilkinson, G. R. The drug transporter P-glycoprotein limits oral absorption and brain entry of HIV-1 protease inhibitors. *J. Clin. Invest.* **1998**, *101*, 289−294.

(45) Emi, Y.; Tsunashima, D.; Ogawara, K.; Higaki, K.; Kimura, T. Role of P-glycoprotein in the secretory mechanism of quinidine absorption from rat small intestine. *J. Pharm. Sci.* **1998**, *87*, 295−299.

(46) Hwang, K.; Giesing, D. H.; Hurst, G. H. Method for enhancing the oral bioavailability of fexofenadine and its derivatives. PCT International Application WO 9908690, 1999.

(47) Karlsson, J.; Kuo, S. M.; Ziemniak, J.; Artursson, P. Transport of celiprolol across human intestinal epithelial (Caco-2) cells: mediation of secretion by multiple transporters including P-glycoprotein. *Br. J. Pharm.* **1993**, *110*, 1009−1016.

(48) Kuo, S. M.; Whitby, B. R.; Artursson, P.; Ziemniak, J. A. The contribution of intestinal secretion to the dose dependent absorption of celiprolol. *Pharm. Res.* **1994**, *11*, 648−653.

(49) Lipka, E.; Spahn-Langguth, H.; Mutschler, E.; Amidon, G. L. In vivo nonlinear intestinal permeability of celiprolol and propanolol in conscious dogs: Evidence for intestinal secretion. *Eur. J. Pharm. Sci.* **1998**, *6*, 75−81.

(50) Wetterich, U.; Spahn-Langguth, H.; Mutschler, E.; Terhaag, B.; Rosch, W.; Langguth, P. Evidence for intestinal secretion as an additional clearance pathway of talinolol enantiomers: Concentration and dose dependent absorption in vitro and in vivo. *Pharm. Res.* **1996**, *13*, 514−522.

(51) Doppenschmitt, S.; Langguth, P.; Regardh, C. G.; Andersson, T. B.; Hilgendorf, C.; Spahn-Langguth, H. Characterisation of binding properties to human P-glycoprotein: Development of a [^{3}H]-verapamil radioligand binding assay. *J. Pharm. Exp. Ther.* **1999**, *288*, 348−357.

(52) Spahn-Langguth, H.; Baktir, G.; Radschuweit, A.; Okyar, A.; Terhaag, B.; Ader, P.; Hanafy, A; Langguth, P. P-glycoprotein transporters and the gastrointestinal tract: Evaluation of the potential in vivo relevance of *in vitro* data employing talinolol as model compound. *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.* **1998**, *36*, 16−24.

(53) Trausch, B.; Oertel, R.; Richter, K.; Gramatte, T. Disposition and bioavailability of the β-adrenoceptor antagonist talinolol in man. *Biopharm. Drug Dispos.* **1995**, *16*, 403−414.

(54) Gramatte, T.; Oertel, R.; Terhaag, B.; Kirch, W. Direct demonstration of small intestinal secretion and site dependent absorption of the β-blocker talinolol in humans. *Clin. Pharmacol. Ther.* **1996**, *59*, 541−549.

(55) Beaumont, K.; Harper, A. M.; Smith, D. A.; Abel, S. Pharmacokinetics and metabolism of a sulfamide NK_2 antagonist in rat, dog and human. *Xenobiotica* **2000**, *30*, 627−642.

(56) Beaumont, K.; Harper, A. M.; Smith, D. A.; Bennett, J. The role of P-glycoprotein in determining the oral absorption and clearance of the NK_2 antagonist, UK-224,671. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2000**, *12*, 41−50.

(57) Schinkel, A. H.; Wagener, E.; van Deemter, L.; Mol, C. A. A. M.; Borst, P. Absence of the mdr1a P-glycoprotein in mice affects tissue distribution and pharmacokinetics of dexamethasone, digoxin and cyclosporine A. *J. Clin. Invest.* **1995**, *96*, 1698−1705.

(58) Paine; Shen; Kunze; Perkins; Marsh; McVicar; Barr; Gillies; Thummel. First-pass metabolism of midazolam by the human intestine. *Clin. Pharmacol. Ther.* **1996**, *60*, 14−24.

(59) Smith, M. T.; Eadie, M. J.; Brophy, T. O. The pharmacokinetics of midazolam in man. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **1981**, *19*, 271−278.

(60) Thummel, K. E.; O'Shea, D, Paine, M. F.; Shen, D. D.; Kunze, K. L.; Perkins, J. D.; Wilkinson, G. R. Oral first-pass elimination of midazolam involves both gastrointestinal and hepatic CYP3A-mediated metabolism. *Clin. Pharmacol. Ther.* **1996**, *59*, 491−502.

(61) Fromm, M. F.; Busse, D.; Kroemer, H. K.; Eichelbaum, M. Differential induction of prehepatic and hepatic metabolism of verapamil by rifampin. *Hepatology* **1996**, *24*, 796−801.

(62) Wacher, V. J.; Salphati, L.; Benet, L. Z. Active secretion and enterocytic drug metabolism barriers to drug absorption. *Adv. Drug Delivery Rev.* **1996**, *20*, 99−112.

(63) Hashimoto, Y.; Sasa, H.; Shimomura, M.; Inui, K. Effects of intestinal and hepatic metabolism on the bioavailability of tacrolimus in rats. *Pharm. Res.* **1998**, *15*, 1609−1613.

(64) Regardh, C. G.; Edgar, B.; Olsson, R.; Kendall, M.; Collste, P.; Shansky, C. Pharmacokinetics of felodipine in patients with liver disease. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **1989**, *36*, 473−479.

(65) Labroo, R. B.; Paine, M. F.; Thummel, K. E.; Kharasch, E. D. Fentanyl metabolism by human hepatic and intestinal cytochrome P4503A4. Implications for interindividual variability in disposition, efficacy, and drug interactions. *Drug Met. Dispos.* **1997**, *25*, 1072−1080.

(66) Yuasa, H.; Kuno, C.; Watanabe, J. Comparative assessment of D-xylose absorption between small intestine and large intestine. *J. Pharm. Pharmacol.* **1997**, *49*, 26−29.

(67) Matthews, D. M. Intestinal absorption of peptides. *Physiol. Rev.* **1975**, *55*, 537−608.

(68) Ussing, H. H.; Zerahn, K. Active transport of sodium as the source of electric current in the short-circuited isolated frog skin. *Acta Physiol. Scand.* **1951**, *23*, 110−127.

(69) Marks, G. I.; Ryan, F. M.; Hidalgo, I. J.; Smith, P. L. Mannitol, as a marker for intestinal integrity in in vitro absorption studies. *Gastroenterology* **1991**, *100*, A697.

(70) Samenen, J.; Wilson, G.; Smith, P. L.; Lee, C.-P.; Bondinell, W.; Ku, T.; Rhodes, G.; Nichols, A. Chemical approaches to improve the oral bioavailability of peptidergic molecules. *J. Pharm. Pharmacol.* **1996**, *48*, 119−135.

(71) Lennernas, H.; Nylander, S.; Ungell, A.-L. Jejunal permeability: a comparison between the Ussing chamber technique and the single-pass perfusion in humans. *Pharm. Res.* **1997**, *14*, 667−671.

(72) Dowty, M. E.; Dietsch, C. R. Improved prediction of in vivo peroral absorption from in vitro intestinal permeability using an internal standard to control for intra- and inter-rat variability. *Pharm. Res.* **1997**, *14*, 1792−1797.

(73) Doluisio, J. T.; Billups, N. F.; Dittert, L. W.; Sugita, E. T.; Swintosky, J. V. Drug absorption. I. An in situ rat gut technique yielding realistic absorption rates. *J. Pharm. Sci.* **1969**, *58*, 1196−1200.

(74) Barr, W. H.; Riegelman, S. Intestinal drug absorption and metabolism. I. Comparison of methods and models to study physiological factors of in vitro and in vivo intestinal absorption. *J. Pharm. Sci.* **1970**, *59*, 154−163.

(75) Taylor, D. C.; Grundy, R. U. An investigation of the rat in situ absorption model using practolol and propranolol. *J. Pharm. Pharmacol.* **1975**, *27*, 65P.

(76) Vila, J. L.; Calpena, A. C.; Obach, R.; Domenech, J. Gastric, intestinal and colonic absorption of a series of β-blockers in the rat. *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther., Toxicol.* **1992**, *30*, 280−286.

(77) Ribadeneira, M. D.; Aungst, B. J.; Eyermann, C. J.; Huang, S.-M. Effects of structural modifications on the intestinal permeability of angiotensin II receptor antagonists and the correlation of in vitro, in situ and in vivo absorption. *Pharm. Res.* **1996**, *13*, 227−233

(78) Stewart, B. H.; Chan, O. H.; Lu, R. H.; Reyner, E. L.; Schmid, H. L.; Hamilton, H. W.; Steinbaugh, B. A.; Taylor, M. D. Comparison of intestinal permeabilities determined in multiple in vitro and in situ models: Relationship to absorption in humans. *Pharm. Res.* **1995**, *12*, 693−699.

(79) Artursson, P.; Palm, K.; Luthman, K. Caco-2 momolayers in experimental and theoretical predictions of drug transport. *Adv. Drug Delivery Rev.* **1996**, *22*, 67−84.

(80) Conradi, R. A.; Hilgers, A. R.; Ho, N. F. H.; Burton, P. S. The influence of peptide structure on transport across Caco-2 cells. *Pharm. Res.* **1991**, *8*, 1453−1460.

(81) Gan, L. L.; Moseley, M. A.; Khosla, B.; Augustijns, P. F.; Bradshaw, T. P.; Hendren, R. W.; Thakker, D. R. CYP3A-like cytochrome P450-mediated metabolism and polarised efflux of cyclosporin A in Caco-2 cells. *Drug Metab. Dispos.* **1996**, *24*, 344−349.

(82) Walgren, R. A.; Walle, Th.; The influence of plasma binding on absorption/ exsorption in the Caco-2 model of human intestinal absorption. *J. Pharm. Pharmacol.* **1999**, *51*, 1037−1040.

(83) Artursson, P.; Ungell, A.-L.; Lofroth, J.-E. Selective paracellular permeability in two models of intestinal absorption: cultured monolayers of human intestinal epithelial cells and rat intestinal segments. *Pharm. Res.* **1993**, *10*, 1123−1129.

(84) Collett, A.; Sims, E.; Walker, D.; He, Y.-L.; Ayrton, J.; Rowland, M.; Warhurst, G. Comparison of HT29−18-C_1 and Caco-2 cell lines as models for studying intestinal paracellular absorption. *Pharm. Res.* **1996**, *13*, 216−221.

(85) Irvine, J. D.; Takahashi, L.; Lockhart, K.; Cheong, J.; Tolan, J. W.; Selick, H. E.; Grove, J. R. MDCK (Madin-Darby Canine Kidney) cells: a tool for membrane permeability screening. *J. Pharm. Sci.* **1999**, *88*, 28−33.

(86) Crespi, C. L.; Fox, L.; Stocker, P.; Hu, M.; Steimel, D. T. Analysis of drug transport and metabolism in cell monolater systems that have been modified by cytochrome P4503A4 cDNA-expression. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2000**, *12*, 63−68.

(87) Doppenschmitt, S.; Spahn-Langguth, H.; Regardh, C. G.; Langguth, P. Role of P-glycoprotein-mediated secretion in absorptive drug permeability: An approach using passive membrane permeability and affinity to P-glycoprotein. *J. Pharm. Sci.* **1999**, *88*, 1067−1072.

(88) Schmid, D.; Ecker, G.; Kopp, S.; Hitzler, M.; Chiba, P. Structure−activity relationship studies of propafenone analogues based on P-glycoprotein ATPase activity measurements. *Biochem. Pharmacol.* **1999**, 58, 1447−1456.

(89) Smith, D. A.; Van de Waterbeemd, H. Pharmacokinetics and metabolism in early drug discovery. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **1999**, *3*, 373−379.

(90) Avdeef, A. High-throughput measurements of solubility profiles. In *Pharmacokinetic Optimization in Drug Research; Biological, Physicochemical and Computational Strategies*; Testa, B., Van de Waterbeemd, H., Folkers, G., Guy, R., Eds.; Verlag HCA: Basel, 2001; pp 305−325.

(91) Bevan, C. D.; Lloyd, R. S. A high-throughput screening method for the determination of aqueous drug solubility using laser nephelometry in microtiter plates. *Anal. Chem.* **2000**, *72*, 1781−1787.

(92) Saurina, J.; Hernandez-Cassou, S.; Tauler, R.; Izquierdo-Ridorsa, A. Spectrophotometric determination of pK_a values based on a pH gradient flow-injection system. *Anal. Chim. Acta* **2000**, *408*, 135−143.

(93) Comer, J.; Tam, K. Lipophilicity profiles: theory and measurement. In *Pharmacokinetic Optimization in Drug Research; Biological, Physicochemical and Computational Strategies*, Testa, B., Van de Waterbeemd, H., Folkers, G., Guy, R., Eds.; Verlag HCA: Basel, 2001; pp 275−304.

(94) Zaslavsky, B. LogP2000, Lausanne, Switzerland. Abstract book, p O-C5.

(95) Avdeef, A. pH-metric log P. II: Refinement of partition coefficients and ionization constants of multiprotic substances. *J. Pharm. Sci.* **1993**, *82*, 183−190.

(96) Avdeef, A.; Box, K. J.; Comer, J. E. A.; Hibbert, C.; Tam, K. Y, pH-metric log P 10. Determination of liposomal membrane-water partition coefficients of ionizable drugs. *Pharm. Res.* **1998**, *15*, 209−215.

(97) Leahy, D. E.; Morris, J. J.; Taylor, P. J.; Wait, A. R. Membranes and their models: towards a rational choice of partitioning system. In *QSAR: Rational Approaches to the Design of Bioactive Compounds*; Silipo, C., Vittoria, A., Eds.: Elsevier: Amsterdam, 1991; pp 75−82.

(98) Steyeart, G.; Lisa, G.; Gaillard, P.; Boss, G.; Reymond, F.; Girault, H. H.; Carrupt, P. A.; Testa, B. Intermolecular forces expressed in 1,2-dichloroethane-water partition coefficients. *J. Chem. Soc., Faraday Trans.* **1997**, *93*, 401−406.

(99) Caron, G.; Steyaert, G.; Pagliara, A.; Reymond, F.; Crivori, P.; Gaillard, P.; Carrupt, P. A.; Avdeef, A.; Comer, J.; Box, K. J.; Girault, H. H.; Testa, B. Structure-lipophilicity relationships of neutral and protonated β-blockers. *Helv. Chim. Acta* **1999**, *82*, 1211−1222.

(100) Yang, C. Y.; Cai, S. J.; Liu, H.; Pidgeon, C. Immobilized artificial membranes – screens for drug membrane interactions. *Adv. Drug Delivery Rev.* **1996**, *23*, 229–256.

(101) Ong, S.; Liu, H.; Pidgeon, C., Immobilized-artificial-membrane chromatography: measurements of membrane partition coefficient and predicting drug membrane permeability. *J. Chromatogr. A.* **1996**, *728*, 113–128.

(102) Stewart, B. H.; Chan, O. H. Use of immobilized artificial membrane chromatography for drug transport applications. *J. Pharm. Sci.* **1998**, *87*, 1471–1478.

(103) Ducarne, A.; Neuwels, M.; Goldstein, S.; Massingham, R. IAM retention and blood brain barrier penetration. *Eur. J. Med. Chem.* **1998**, *33*, 215–223.

(104) Reichel, A.; Begley, D. J. Potential of immobilized artificial membranes for predicting drug penetration across the blood-brain barrier. *Pharm. Res.* **1998**, *15*, 1270–1274.

(105) Lundahl, P.; Beigi, F. Immobilised liposome chromatography of drugs for model analysis of drug-membrane interactions. *Adv. Drug Delivery Rev.* **1997**, *23*, 221–227.

(106) Norinder, U.; Österberg, Th. The applicability of computational chemistry in the evaluation and prediction of drug transport properties. *Perspect. Drug Discovery Des.* **2000**, *19*, 1–18.

(107) Balon, K.; Riebesehl, B. U.; Muller, B. W. Determination of liposome partitioning of ionizable drugs by titration. *J. Pharm. Sci.* **1999**, *88*, 802–806.

(108) Trone, Mark D.; Leonard, Michael S.; Khaledi, Morteza G. Congeneric Behavior in estimations of octanol–water partition coefficients by micellar electrokinetic chromatography. *Anal. Chem.* **2000**, *72*, 1228–1235.

(109) Van de Waterbeemd, H.; Testa, B. The parametrization of lipophilicity and other structural properties in drug design. *Adv. Drug Res.* **1987**, *16*, 85–225.

(110) Young, R. C.; Mitchell, R. C.; Brown, Th. H.; Ganellin, C. R.; Griffiths, R.; Jones, M.; Rana, K. K.; Saunders: D.; Smith, I. R.; Sore, N. E.; Wilks, T. J. Development of a new physicochemical model for brain penetration and its application to the design of centrally acting H_2 receptor histamine antagonists. *J. Med. Chem.* **1988**, *31*, 656–671.

(111) Palm, K.; Luthman, K.; Ros, J.; Grasjo, J.; Artursson, P. Effect of molecular charge on intestinal epithelial drug transport: pH-dependent transport and cationic drugs. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1999**, *291*, 435–443.

(112) Camenisch, G.; Van de Waterbeemd, H.; Folkers, G. Review of theoretical passive drug absorption models: Historical background, recent developments and limitations. *Pharm. Acta Helv.* **1996**, *71*, 309–327.

(113) Caron, G.; Gaillard, P.; Carrupt, P. A.; Testa, B. Lipophilicity behavior of model and medicinal compounds containing a sulfide, sulfoxide, or sulfone moiety. *Helv. Chim. Acta* **1997**, *80*, 449–461.

(114) Caron, G.; Reymond, F.; Carrupt, P. A.; Girault, H. H.; Testa, B. Combined molecular lipophilicity descriptors and their role in understanding intramolecular effects. *Pharm. Sci. Technol. Today* **1999**, *2*, 327–335.

(115) Boisset, M.; Botham, R. P.; Haegele, K. D.; Lenfant, B.; Pachot, J. L. Absorption of angiotensin II antagonists in Ussing chambers, Caco-2, perfused jejunum loop and in vivo: Importance of drug ionisation in the in vitro prediction of in vivo absorption. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2000**, *10*, 215–224.

(116) Wildman, S. A.; Crippen, G. M. Prediction of physicochemical parameters by atomic contributions. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **1999**, *39*, 868–873.

(117) Spessard, G. O. ACD Labs/logP dB 3.5 and ChemSketch 3.5. *J. Chem. Inf.Comput. Sci.* **1998**, *38*, 1250–1253.

(118) Leo, A. J.; Hoekman, D. Calculating log P(oct) with no missing fragments; The problem of estimating new interaction parameters. *Perspect. Drug Discovery Des.* **2000**, *18*, 19–38.

(119) Mannhold, R.; Rekker, R. F. The hydrophobic fragmental constant approach for calculating log P in octanol/water and aliphatic hydrocarbon/water systems. *Perspect. Drug Discovery Des.* **2000**, *18*, 1–18.

(120) Buchwald, P.; Bodor, N. Octanol–water partition: Searching for predictive models. *Curr. Med. Chem.* **1998**, *5*, 353–380.

(121) Carrupt, P. A.; Testa, B.; Gaillard, P. Computational approaches to lipophilicity: Methods and applications. *Rev. Comput. Chem.* **1997**, *11*, 241–315.

(122) Mannhold, R.; Van de Waterbeemd, H. Substructure and whole molecule approaches for calculating log P. *Perspect. Drug Discovery Des.* **2001**, *21*, in press

(123) Dearden, J. C.; Ghafourian, T. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **1999**, *39*, 231–235.

(124) Klebe, G.; Abraham, U. *J. Comput.-Aided Mol. Des.* **1999**, *13*, 1–10.

(125) Raevsky, O. A.; Schaper, K.-J., Quantitative estimation of hydrogen bond contribution to permeability and absorption processes of some chemicals and drugs. *Eur. J. Med. Chem.* **1998**, *33*, 799–807.

(126) Van de Waterbeemd, H.; Camenisch, G.; Folkers, G.; Raevsky, O. A. Estimation of Caco-2 cell permeability using calculated molecular descriptors. *Quantum Struct.-Act. Relat.* **1996**, *15*, 480–490.

(127) Bravi, G.; Wikel, J. H. Application of MS-WHIM descriptors: 3. Prediction of Molecular Properties. *Quantum Struct. Act. Relat.* **2000**, *19*, 39–49.

(128) Camenisch, G.; Folkers, G.; Van de Waterbeemd, H. Comparison of passive drug transport through Caco-2 cells and artificial membranes. *Int. J. Pharmaceut.* **1997**, *147*, 61–70.

(129) Kansy, M.; Senner, F.; Gubernator, K. Physicochemical high throughput screening: Parallel artificial membrane Permeation assay in the description of passive absorption processes. *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 1007–1010.

(130) Kansy, M.; Fischer, H.; Kratzat, K.; Senner, F.; Wagner, B.; Parrilla, I. High-throughput artificial membrane permeability studies in early lead discovery and development. In *Pharmacokinetic Optimization in Drug Research; Biological, Physicochemical and Computational Strategies*; Testa, B., Van de Waterbeemd, H., Folkers, G., Guy, R., Eds.; Verlag HCA: Basel, 2001; pp 447–464.

(131) Faller, B.; Wohnsland, F. Physicochemical parameters as tools in drug discovery and lead optimization. In *Pharmacokinetic Optimization in Drug Research; Biological, Physicochemical and Computational Strategies*; Testa, B., Van de Waterbeemd, H., Folkers, G., Guy, R., Eds.; Verlag HCA: Basel, 2001; pp 257–273.

(132) Takagi, M.; Taki, Y.; Sakane, T.; Nadai, T.; Sezaki, H.; Oku, N.; Yamashita, S. A new interpretation of salicylic acid transport across the lipid bilayer: implications of pH-dependent but not carrier-mediated absorption from the gastrointestinal tract. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1998**, *285*, 1175–1180.

(133) Balon, K.; Riebesehl, B. U.; Muller, B. W. Drug liposome partitioning as a tool for the prediction of human passive intestinal absorption. *Pharm. Res.* **1999**, *16*, 882–888.

(134) Winiwarter, S.; Bonham, N. M.; Ax, F.; Hallberg, A.; Lennernaes, H.; Karlen, A. Correlation of human jejunal permeability (in vivo) of drugs with experimentally and theoretically derived parameters. A multivariate data analysis approach. *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 4939–4949.

(135) Artursson, P.; Karlsson, J. Correlation between oral drug absorption in humans and apparent drug permeability coefficients in human intestinal epithelial (Caco-2) cells. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **1991**, *175*, 880–885.

(136) Van de Waterbeemd, H.; Camenisch, G.; Folkers, G.; Chrétien, J. R.; Raevsky, O. A. Estimation of blood-brain barrier crossing of drugs using molecular size and shape, and H-bonding descriptors. *J. Drug Targeting* **1998**, *2*, 151–165.

(137) Smith, D. A.; Jones, B. C.; Walker, D. K. Design of drugs involving the concepts and theories of drug metabolism and pharmacokinetics. *Med. Res. Rev.* **1996**, *16*, 243–266.

(138) El Tayar, N.; Testa, B.; Carrupt, P. A. Polar intermolecular interactions encoded in partition coefficents: an indirect estimation of hydrogen-bond parameters of polyfunctional solutes. *J. Phys. Chem.* **1992**, *96*, 1455–1459.

(139) Abraham, M. H.; Chadha, H. S. Applications of a solvation equation to drug transport properties. In *Lipophilicity in Drug Action and Toxicology*; Pliska, V., Testa, B., Van de Waterbeemd, H., Eds.; VCH: Weinheim, Germany, 1996; pp 311–337.

(140) Von Geldern, T. W.; Hoffmann, D. J.; Kester, J. A.; Nellans, H. N.; Dayton, B.d.; Calzadilla, S. V.; Marsch, K. C.; Hernandez, L.; Chiou, W.; Dixon, D. B.; Wu-Wong, J. R.; Opgenorth, T. J. Azole endothelin antagonists. 3. Using Δlog P as a tool to improve absorption. *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 982–991.

(141) Chan, O. H.; Stewart, B. H. Physicochemical and drug-delivery considerations for oral drug bioavailability. *Drug Discovery Today* **1996**, *1*, 461–473.

(142) Van de Waterbeemd, H. Quantitative structure–absorption relationships. In *Pharmacokinetic Optimization in Drug Research; Biological, Physicochemical and Computational Strategies*; Testa, B., Van de Waterbeemd, H., Folkers, G., Guy, R., Eds.; Verlag HCA: Basel, 2001; pp 499–511.

(143) Palm, K.; Luthman, K.; Ungell, A. L.; Strandlund, G.; Beigi, F.; Lundahl, P.; Artursson, P. Evaluation of dynamic polar molecular surface area as predictor of drug absorption: comparison with other computational and experimental predictors. *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 5382–5392.

(144) Clark, D. E. Rapid calculation of polar molecular surface area and its application to the prediction of transport phenomena. 1. Prediction of intestinal absorption. *J. Pharm. Sci.* **1999**, *88*, 807–814.

(145) Norinder, U.; Österberg, Th.; Artursson, P. Theoretical calculation and prediction of intestinal absorption of drugs in humans using MolSurf parametrization and PLS statistics. *Eur. J. Pharm. Sci.* **1999**, *8*, 49–56.

(146) Guba, W.; Cruciani, G. Molecular field-derived descriptors for the multivariate modeling of pharmacokinetic data. In *Molecular Modelling and Prediction of Bioreactivity*; Gundertofte, K., Jorgensen, F. S., Eds.; Plenum: New York, 2000; pp 89–94.
(147) Oprea, T. J.; Gottfries, J. Toward minimalistic modeling of oral drug absorption. 1. *J. Mol. Graphics. Modell.* **2000**, *17*, 261–274.
(148) Cruciani, G.; Crivori, P.; Carrupt, P.-A.; Testa, B. Molecular fields on quantitative structure-permeation relationships: The Volsurf approach. *THEOCHEM* **2000**, *503*, 17–30.
(149) Abraham, M. H.; Le, J. The correlation and prediction of the solubility of compounds in water using an amended solvation energy relationship. *J. Pharm. Sci.* **1999**, *88*, 868–880.
(150) Abraham, M. H.; Takacs-Novak, K.; Mitchell, R. C. On the partition of ampholytes: application to blood-brain distribution. *J. Pharm. Sci.* **1997**, *86*, 310–315.
(151) Yoshida, F.; Topliss, J. G. QSAR model for drug human bioavailability. *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 2575–2585.
(152) Fischer, H.; Gottschlich, R.; Seelig, A. Blood-brain barrier permeation: Molecular parameters governing passive diffusion. *J. Membr. Biol.* **1998**, *165*, 201–211.
(153) Gratton, J. A.; Abraham, M. H.; Bradbury, M. W.; Chadra, H. S. Molecular factors influencing drug transfer across the blood-brain barrier. *J. Pharm. Pharmacol.* **1997**, *49*, 1211–1216.
(154) Clark, D. E. Rapid calculation of polar molecular surface area and its application to the prediction of transport phenomena. 2. Prediction of blood-brain barrier penetration. *J. Pharm. Sci.* **1999**, *88*, 815–821.
(155) Luco, J. M. Prediction of the brain-blood distribution of a large set of drugs from structurally derived descriptors using partial least-squares (PLS) modelling. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **1999**, *39*, 396–404.
(156) Norinder, U.; Sjöberg, P.; Österberg, T. Theoretical calculation and prediction of brain-blood partitioning of organic solutes using MolSurf parametrization and PLS statistics. *J. Pharm. Sci.* **1998**, *87*, 952–959.
(157) Lombardo, F.; Blake, J. F.; Curatolo, W. J. Computation of brain-blood partitioning of organic solutes via free energy calculations. *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 4750–4755.
(158) Kelder, J.; Grootenhuis, P. D. J.; Bayada, D. M.; Delbressine, L. P. C.; Ploemen, J.-P. Polar molecular surface as a dominating determinant for oral absorption and brain penetration of drugs. *Pharm. Res.* **1999**, *16*, 1514–1519.
(159) Crivori, P.; Criciani, G.; Carrupt, P. A.; Testa, B. Predicting blood-brain barrier permeation from three-dimensional molecular structure. *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 2204–2216.
(160) Rowley, M.; et al. Effect of plasma protein binding on in vivo activity and brain penetration of glycine/NMDA receptor antagonists. *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 4053–4068.
(161) Van Asperen, J.; Mayer, U.; Van Tellingen, O.; Beijen, J. H. The functional role of P-glycoprotein in the blood-brain barrier. *J. Pharm. Sci.* **1997**, *86*, 881–884.
(162) Kim, R. B.; Fromm, M. F.; Wandel, C.; Leake, B.; Wood, A. J. J.; Roden, D. M.; Wilkinson, G. R. The drug transporter P-glycoprotein limits oral absorption and brain entry of HIV-1 protease inhibitors. *J. Clin. Invest.* **1998**, *101*, 289–294.
(163) Johnson, M. D.; Anderson, B. D. In vitro models of the blood-brain barrier to polar permeants: Comparison of transmonolayer flux measurements and cell uptake kinetics using cultured cerebral capillary endothelial cells. *J. Pharm. Sci.* **1999**, *88*, 620–625.
(164) Wilschut, A.; Ten Berge, W. F.; Robinson, P. J.; McKone, T. E. Estimating skin permeation. The validation of five mathematical skin permeation models. *Chemosphere* **1995**, *30*, 1275–1296.
(165) Lee, A. J.; King, J. R.; Barrett, D. A. Percutaneous absorption: a multiple pathway model. *J. Controlled Release* **1997**, *45*, 141–151.
(166) Lien, E. J.; Gao, H. QSAR analysis of skin permeability of various drugs in man as compared to in vivo and in vitro studies in rodents. *Pharm. Res.* **1995**, *12*, 583–587.
(167) Cronin, M. T. D.; Dearden, J. C.; Moss, G. P.; Murray-Dickson, G. Investigation of the mechanism of flux across human skin in vitro in quantitative structure-permeability relationships. *Eur. J. Pharm. Sci.* **1999**, *7*, 325–330.
(168) Bunge, A. L.; Cleek, R. L. A new method for estimating dermal absorption from chemical exposure: 2. Effect of molecular weight and octanol–water partitioning. *Pharm. Res.* **1995**, 12, 88–95.
(169) Potts, R. O.; Guy, R. H. A predictive algorithm for skin permeability: The effects of molecular size and hydrogen bond activity. *Pharm. Res.* **1995**, *12*, 1628–1633.
(170) Pugh, W. J.; Roberts, M. S.; Hadgraft, J. Epidermal permeability – penetrant structure relationships: 3. The effect of hydrogen bonding interactions and molecular size on diffusion across the stratum corneum. *Int. J. Pharm.* **1996**, *138*, 149–165.
(171) Pugh, W. J.; Degim, I. T.; Hadgraft, J. Epidermal permeability-penetrant structure relationships: 4. QSAR of permeant diffusion across human stratum corneum in terms of molecular weight, H-bonding and electronic charge. *Int. J. Pharm.* **2000**, 197, 203-211.
(172) Pugh, W. J. Relationship between H-bonding of penetrants to stratum corneum lipids and diffusion. *Drugs Pharm. Sci.* **1999**, *97* (Percutaneous Absorption: Drugs- -Cosmetics- -Mechanisms- -Methodology, (3rd edition)), 177–192.
(173) Modamio, P.; Lastra, C. F.; Marino, E. L. A comparative in vitro study of percutaneous penetration of β-blockers in human skin. *Int. J. Pharm.* **2000**, *194*, 249–259.
(174) Yoshida, F.; Topliss, J. G. Unified model for the corneal permeability of related and diverse compounds with respect to their physicochemical properties. *J. Pharm. Sci.* **1996**, *85*, 819–823.
(175) Donnelly, A.; Kellaway, I.w.; Farr, S. J.; Taylor, G.; Tudball, N.; Gibson, M. The influence of lipophilicity upon the nasal absorption of a series of hexapeptides. *Int. J. Pharm.* **1996**, *135*, 191–197.
(176) Kissel, Th.; Werner, U. Nasal delivery of peptides: an in vitro cell culture model for the investigation of transport and metabolism in human nasal epithelium. *J. Controlled Release* **1998**, *53*, 195–203.
(177) Prentis, R. A.; Lis, Y.; Walker, S. R. Pharmaceutical innovation by the seven UK-owned pharmaceutical companies (1964–1985). *Br. J. Clin. Pharmacol.* **1988**, *25*, 387–396.
(178) Urquhart, J. Pharmacodynamics of variable patient compliance: implications for pharmaceutical value. *Adv. Drug Delivery Rev.* **1998**, *33*, 207–219.
(179) Smith, D. A.; Jones, B. C.; Walker, D. K. Design of drugs involving the concepts and theories of drug metabolism and pharmacokinetics. *Med. Res. Rev.* **1996**, *16*, 243–266.
(180) Murdoch, D.; Heel, R. C. Amlodipine: a review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic use in cardiovascular disease. *Drugs* **1991**, *41*, 478–505.
(181) Hayes, A.; Cooper, R. G. Studies on the absorption, distribution and excretion of propranolol in rat, dog and monkey. *J. Pharm. Exp. Ther.* **1971**, *176*, 302–311.
(182) Evans, G. H.; Nies, A. S.; Shand, D. G. The disposition of propranolol. III. Decreased half-life and volume of distribution as a result of plasma binding in man, monkey, dog and rat. *J. Pharm. Exp. Ther.* **1973**, *186*, 114–122.
(183) Borchard, U. Pharmacokinetics of beta-adrenoceptor blocking agents: clinical significance of hepatic and/or renal clearance. *Clin. Physiol. Biochem.* **1990**, *8* (suppl 2), 28–34.
(184) Boxenbaum, H. Interspecies scaling, allometry, physiological time, and the ground plan of pharmacokinetics. *J. Pharmacokinet. Biopharm.* **1981**, *10*, 201–227.
(185) Paxton, J. W. The allometric approach for interspecies scaling of pharmacokinetics and toxicity of anti-cancer drugs. *Clin. Exp. Pharm. Physiol.* **1995**, *22*, 851–854.
(186) Mahmood, I. and Balian, J. D. Interspecies scaling: a comparative study for the prediction of clearance and volume using two or more than two species. *Life Sci.* **1996**, *59*, 579–585.
(187) Ritschel, W. A.; Vachharajani, N. N.; Johnson, R. D. and Hussain, A. S. The allometric approach for interspecies scaling of pharmacokinetic parameters. *Comp. Biochem. Physiol.* **1992**, *103C*, 249–253.
(188) Jezequel, S. G. Fluconazole: interspecies scaling and allometric relationships of pharmacokinetic properties. *J. Pharm. Pharmacol.* **1994**, *46*, 196–199.
(189) Houston, J. B. Utility of in vitro drug metabolism data in predicting in vivo metabolic clearance. *Biochem. Pharmacol.* **1994**, 47, 1469–1479.
(190) Bäärnhielm, C.; Dahlbäck, H.; Skånberg, I. In vivo pharmacokinetics of felodipine predicted from in vitro studies in rat, dog and man. *Acta Pharmacol. Toxicol.* **1986**, *59*, 113–122.
(191) Walker, D. K.; Alabaster, C. T.; Congrave, G. S.; Hargreaves, M. B.; Hyland, R.; Jones, B. C.; Reed, L. J.; Smith, D. A. Significance of metabolism in the disposition and action of the antidysrhythmic drug, dofetilide. *Drug Metab. Dispos.* **1996**, *24*, 447–455.
(192) Smith, D. A.; Rasmussen, H. S.; Stopher, D. A.; Walker, D. K. Pharmacokinetics and metabolism of dofetilide in mouse, rat, dog and man. *Xenobiotica* **1992**, *22*, 709–719.
(193) Rodrigues, A. D. Use of in vitro metabolism studies in drug development: an industrial perspective. *Biochem. Pharmacol.* **1994**, *48*, 2147–2156.
(194) Cole, R. O.; Laws, K. A.; Hiller, D. L.; Kiplinger, J. P.; Ware, R. S. Reduced dimension HPLC columns as a practical tool for rapid separations in drug discovery. *Am. Lab.* **1998**, *30*, 15–20.
(195) Hiller, D. L.; Zuzel, T. J.; Williams, J. A.; Cole, R. O. Rapid scanning technique for the determination of optimal tandem mass spectrometric conditions for quantitative analysis. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **1997**, *11*, 593–597.

(196) Schneider, G.; Coassolo, P.; Lavé, T. Combining in vitro and in vivo pharmacokinetic data for prediction of hepatic drug clearance in humans by artificial neural networks and multivariate statistical techniques. *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 5072−5076.
(197) Wilkinson, G. R.; Shand, D. G. A physiological approach to hepatic drug clearance. *Clin. Pharmacol. Ther.* **1975**, *18*, 377−390.
(198) Obach, R. S.; Baxter, J. G.; Liston, T. E.; Silber, B. M.; Jones, B. C.; Macintyre, F.; Rance, D. J.; Wastall, P. The prediction of human pharmacokinetic parameters from preclinical and in vitro metabolism data. *J. Pharm. Exp. Ther.* **1997**, *283*, 46−58.
(199) Obach, R. S. Nonspecific binding to microsomes: impact on scale-up of *in vitro* intrinsic clearance to hepatic clearance as assessed through examination of warfarin, imipramine and propranolol. *Drug Metab. Dispos.* **1997**, *25*, 1359−1369.
(200) Dugar, S.; Yumibe, N.; Clader, J. W.; Vizziano, M.; Huie, K.; Heek, M. V.; Compton, D. S. and Davis, H. R. Metabolism and structure activity data based drug design: discovery of (−)SCH 53079 an analog of the potent cholesterol absorption inhibitor (−)SCH 48461. *Biorg. Med. Chem. Lett.* **1996**, *6*. 1271−1274.
(201) Manoury, P. M.; Binet, J. L.; Rousseau, J.; Leferre-Borg, F. M. and Cavero, I. G. Synthesis of a series of compounds related to betaxolol, a new β1-adrenoceptor antagonist with a pharmacological and pharmacokinetic profile optimized for the treatment of chronic cardiovascular diseases. *J. Med. Chem.* **1987**, *30*, 1003−1011.
(202) Floyd, D. M.; Kimball, S. D.; Drapcho, J.; Das, J.; Turk, C. F.; Moquin, R. V.; Lago, M. W.; Duff, K. J.; Lee, V. G.; White, R. E.; Ridgewell, R. E.; Moreland, S.; Brittain, R. J.; Normandin, D. E.; Hedberg, S. A.; Cucinotta, G. C. Benzazepinone calcium channel blockers. 2. Structure−activity and drug metabolism studies leading to potent antihypertensive agents. Comparison with benzothiazepinones. *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 756−772
(203) Stjernlof, P.; Gullme, M.; Elebring, T.; Anderson, B.; Wikstrom, H.; Lagerquist, S.; Svensson, K.; Ekman, A.; Carlsson, A and Sundell, S. 5-, 6-, 7- and 8-Amino-2-(N, N-di-*n*-propylamino)-1,2,3,4-tetrahydronaphthalenes: centrally acting DA and 5-HT1A agonists. *Eur. J. Med. Chem.* **1993**, *36*, 2059−2065.
(204) Bergamini, N.; Fowst, G. Rifamycin SV. *Arzneim-Forsch G* **1965**, *15*, 951−970.
(205) Faulkner, J. K.; McGibney, D.; Chasseaud, L. F.; Perry, J. L.; Taylor, I. W. The pharmacokinetics of amlodipine in healthy volunteers after single intravenous and oral doses and after 14 repeated oral doses given once daily. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **1986**, *22*, 21−25.
(206) Edgar, B.; Regårdh, C. G.; Johnsson, G.; Johansson, L.; Lundborg, P.; Löfberg, I.; Rönn, O. Felodipine kinetics in healthy men. *Clin Pharmacol. Ther.* **1985**, *38*, 205−211.
(207) Kleinbloesem, H.; van Harten, J.; Wilson, J. P. H.; Danhof, M.; van Brummelen, P.; Breimer, D. D. Nifedipine: kinetics and hemodynamic effects in patients with liver cirrhosis after intravenous and oral administration. *Clin. Pharmacol. Ther.* **1986**, *40*, 21−28.
(208) Soons, P. A.; Breimer, D. D. Stereoselective pharmacokinetics of oral and intravenous nitrendipine in healthy male subjects. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **1991**, *32*, 11−16.
(209) Beaumont, K. C.; Causey, A. G.; Coates, P. E.; Smith, D. A. Pharmacokinetics and metabolism of zamifenacin in mouse, rat, dog and man. *Xenobiotica* **1996**, *26*, 459−471.
(210) Bundgaard, H. Design and application of prodrugs. In *A Textbook of Drug Design and Development*; Krogsgaard-Larsen, P., Bundgaard, H., Eds.; Harwood: Chur, **1991**. pp 113−191.
(211) Bodor, N.; Buchwald, P. Soft drug design. General principles and recent applications. *Med. Res. Rev.* **2000**, *20*, 58−101.
(212) Buur, A.; Trier, L.; Magnusson, C.; Artursson, P. Permeability of 5-fluorouracil and prodrugs in Caco-2 cell monolayers. *Int. J. Pharm.*. **1996**, *129*, 223−231.
(213) Testa, B.; Cruciani, G. Structure-metabolism relations, and the challenge of predicting biotransformation. In *Pharmacokinetic Optimization in Drug Research; Biological, Physicochemical and Computational Strategies*; Testa, B., Van de Waterbeemd, H., Folkers, G., Guy, R., Eds.; Verlag HCA: Basel, 2001; pp 65−84.
(214) Ekins, S.; Bravi. G.; Binkley, S.; Gillespie, J. S.; Ring, B. J.; Wikel, J. H.; Wrighton, S. A. Three- and four-dimensional quantitative structure−activity relationship analyses of cytochrome P-450 3A4 inhibitors. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1999**, *290*, 429−438.
(215) De Groot, M. J.; Ackland, M. J.; Horne, V. A.; Alex, A. A.; Jones, B. C. Novel approach to predicting P450-mediated drug metabolism: Development of a combined protein and pharmacophore model for CYP2D6. *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 1515−1524.
(216) Ter Laak, A. M.; Vermeulen, N. P. E. Molecular modeling approaches to predict metabolism and toxicity. In *Pharmacokinetic Optimization in Drug Research; Biological, Physicochemical and Computational Strategies*; Testa, B., Van de Waterbeemd, H., Folkers, G., Guy, R., Eds.; Verlag HCA: Basel, 2001; pp 551−588.
(217) Smith, D. A.; Van de Waterbeemd, H.; Walker, D. K. *Drug Design − Impact of Metabolism and Pharmacokinetics*; Wiley-VHCA: Basel, in press.
(218) Walther, B.; Vis, P.; Taylor, A. Lipophilicity and metabolites and its role in biotransformation. In *Lipophilicity in Drug Action and Toxicology*; Pliska, V., Testa, B., Van de Waterbeemd, H, Eds.; VCH: Weinheim, Germany, 1996; pp 253−261.
(219) Testa, B.; Crivori, P.; Reist, M.; Carrupt, P. A. The influence of lipophilicity on the pharmacokinetic behavior of drugs: Concepts and examples. *Perspect. Drug Discovery Des.* **2000**, *19*, 179−211.
(220) Caron, G.; Carrupt, P. A.; Testa, B.; Ermondi, G.; Gasco, A. Insight into the lipophilicity of the aromatic *N*-oxide moiety. *Pharm. Res.* **1996**, *13*, 1186−1190.
(221) Giroud, Y.; Carrupt, P. A.; Pagliara, A.; Testa, B.; Dickinson, R. G. Intrinsic and intramolecular lipophilicity effects in O-glucuronides. *Helv. Chim. Acta* **1998**, *81*, 330−341.
(222) Higgins, L.; Korzekwa, K. R.; Rao, S.; Shou, M.; Jones, J. P. An assessment of the reaction energetics for cytochrome P450-mediated reactions. *Arch. Biochem. Biophys.* **2001**, *385*, 220−230.
(223) Andrews, C. W.; Bennett, L.; Yu, L. X. Predicting human oral bioavailability of a novel quantitative structure-bioavailability relationship. *Pharm. Res.* **2000**, *17*, 639−644.

JM000407E

Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

DELEGATURA DE PROPIEDAD INDUSTRIAL

División de Nuevas Creaciones

SOLICITUD
PATENTE DE INVENCIÓN

21. **EXPEDIENTE No.** _____

54. **TÍTULO** DERIVADOS DE PIRROLIDIN-2-ONA COMO MODULADORES DEL RECEPTOR DE ANDROGENO

51. **CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL** _____

71. **SOLICITANTE** TAKEDA PHARMACEUTICAL COMPANY LIMITED

DOMICILIO OSAKA, JAPON

74. **APODERADO** LUZ CLEMENCIA DE PAEZ
C.C. 35.456.344 de Usaquén

22. **BOGOTÁ, D.C.,** _____

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

Espacio reservado para el adhesivo de radicación

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES
CONVERSIÓN, DIVISIÓN Y FUSIÓN DE SOLICITUDES

1. Identificación del Tramite

☐ **Conversión** ☒ **División** ☐ **Fusión**

☒ Patente de Invención
☐ Patente de Modelo de Utilidad
☐ Registro de Diseño Industrial
☐ Esquema de Trazado de Circuitos Integrados

2. Datos del solicitante

Persona Natural ☐ Persona Jurídica ☒

TAKEDA PHARMACEUTICAL COMPANY LIMITED

Nombre o denominación / Nombre o razón social completa

Nombre representante legal

Tipo de empresa Micro ☐ Pequeña ☐ Mediana ☐ Otra ☐

Documento de identificación: ☐ C.C. ☐ C.E. ☐ NIT ☐ Otro Número _____

Nacionalidad/País de constitución	Dirección y domicilio del titular	Ciudad
Japón	1-1, Doshomachi 4-chome, Chuo-ku, Osaka-shi, Osaka 5410045	Osaka

Dirección electrónica	No. Fax	Número telefónico
clientes@cavelier.com	2 11 86 50	3 47 36 11

☐ **Autorizo expresamente a la Superintendencia de Industria y Comercio para que todas las comunicaciones sean enviadas a través de la dirección de correo electrónico**

3. Datos del apoderado:

Apellidos y Nombre	Documento de identificación	Tarjeta profesional
De Páez Luz Clemencia	C.C. 35.456.344	T.P.A. 23.555

Dirección y domicilio		Ciudad
Carrera 4ª No. 72 –35		Bogotá
Dirección electrónica	**No. Fax**	**Número telefónico**
cavelier@cavelier.com	2 11 86 50	3 47 36 11

En caso de haber presentado poder general para asuntos que se adelanten ante la Delegatura de Propiedad Industrial, sírvase indicar el número de su radicación o protocolo de poder general

4. Datos del trámite

CONVERSION	DIVISION	FUSION
Expediente_____	Expediente : **10.026.475**	Expediente_____
De: _____	De: _____	De: _____
A: _____	A: _____	A: _____

5. Comprobante de Pago No 13-0014244 **Fecha : 2013/02/13**
Comprobante de Pago No 13-0022291 **Fecha : 2013/03/06**

6. Anexos

- [x] Comprobante de pago de la tasa de presentación solicitud por $450.000
- [x] Comprobante de pago por 12 reivindicaciones adicionales después de la décima reivindicación por $ 360.000
- [x] Poder, si fuere el caso con el que se acredita la representación
- [x] Documento que contiene la conversión, división o fusión de la solicitud
- [ ] Copia de la solicitud y sus anexos en formato magnético

7. Firma	
Nombre y apellidos **LUZ CLEMENCIA DE PAEZ**	Firma Luz Clemencia De Paez
C.C. 35.456.344 DE Usaquén	Tarjeta Profesional 23.555

DGA\DGA\NCA\ID-AF237322\WPC14656

NOTA: Esta es una solicitud de división de la materia contenida originalmente en la solicitud de patente No. **10.026.475** .La solicitud de división de la materia se hace como consecuencia de las observaciones hechas por ese Despacho y que fueron dadas a conocer al solicitante por medio del oficio No. 19650 notificado por fijación en lista del 16 de octubre de 2012. Por lo tanto pido que esta solicitud de división de materia sea tratada con el beneficio de presentación de la solicitud original, esto es 05 de marzo de 2010 y las prioridades que allí se reivindican el 07 de agosto de 200 y el 19 de noviembre de 2007

Nota: La copia básica original se encuentra en el expediente No. **10.026.475**

DERIVADOS DE PIRROLIDIN-2-ONA COMO MODULADORES DEL RECEPTOR DE ANDRÓGENO

Campo técnico

La presente invención se refiere a un compuesto de amina cíclica de utilidad como un modulador del receptor de andrógeno, y similares.

Antecedentes de la invención

Los andrógenos se sintetizan en los testículos y en la corteza suprarrenal, se unen a un receptor de andrógeno de un órgano diana y muestran varias actividades fisiológicas. Desde el punto de vista químico, cualquier andrógeno natural pertenece a los esteroides C19. Entre estos, el principal andrógeno es la testosterona que se sintetiza principalmente en los testículos, se absorbe en una célula diana y muestra actividad fisiológica importante. En las hembras, la corteza suprarrenal es la principal fuente de aporte de andrógenos.

Los andrógenos participan en el crecimiento y mantenimiento de la función de los órganos genitales (próstata, glándula vesicular, epidídimo, conducto deferente, etc.), en la diferenciación sexual en la etapa embrionaria, en la formación de espermatozoos, en la expresión de características sexuales secundarias (inducción de masculinización, por ejemplo, músculo esquelético, voz, distribución de grasas, etc., y similares), en la promoción de la elaboración de proteínas en el músculo, y similares, en el metabolismo óseo, y similares. En consecuencia, la deficiencia de andrógenos debido a la disfunción de los testículos, a la castración, y a los resultados similares de acciones insuficientes mencionadas anteriormente, llevan a varias enfermedades y degradan la QOL (calidad de vida, según siglas en inglés). Para abordar la situación, en general se emplea una terapia de reemplazo de andrógenos. Además de la testosterona, se han estudiado andrógenos que muestran diferente

balance de la acción androgénica y se han puesto en uso práctico en situaciones clínicas.

Por otra parte, cuando los andrógenos están involucrados en la progresión de la patología, se emplea una terapia de privación de andrógenos. Por ejemplo, en el caso del cáncer de próstata dependiente de andrógenos, la castración y la administración de agonista de GnRH disminuyen la testosterona y aumentan el efecto del tratamiento.

En la terapia de reemplazo de andrógenos, en general se usan testosterona y andrógenos sintéticos. Sin embargo, estos tienen un esqueleto esteroide, que coloca mucha carga en el hígado o muestra otra acción de hormona esteroide. En consecuencia, se considera que un modulador del receptor de andrógeno (particularmente un agonista) que tiene un esqueleto no esteroide es útil para la mejora de la patología causada por acción androgénica insuficiente (hipogonadismo, trastorno climatérico masculino y similares) y de la patología en la que se espera que se muestre una mejora por la acción de los andrógenos (osteoporosis y similares).

Se sabe que un derivado de naftaleno que tiene un anillo pirrolidina presenta una acción moduladora superior del receptor de andrógeno (WO 2004/16576). Sin embargo, esta referencia no describe un derivado de pirrolidinobenceno que tenga un sustituyente en la posición 3 del anillo de pirrolidina.

Si bien se conocen un derivado de benceno que tiene un anillo pirrolidina, que muestra una acción antiandrógeno (documentos JP 2002–88073 A y WO 2005/090282) y un derivado de benceno que tiene un anillo pirrolidina, que se usa para osteoporosis, y similares (WO 2005/108351), no se ha descrito un compuesto que tenga un sustituyente en la posición 3 de un anillo pirrolidina.

Descripción de la invención

Problemas que van a ser resueltos con la invención

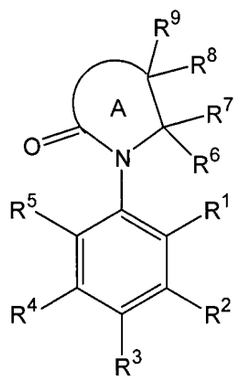
La presente invención tiene el objetivo de proporcionar un compuesto que tiene una mayor acción moduladora del receptor de andrógeno.

Medios para resolver los problemas

Los presentes inventores han realizado estudios intensivos en vista de los problemas mencionados anteriormente y hallaron que un compuesto de aminobenceno cíclico representado por la fórmula (I) inesperadamente tiene una acción moduladora del receptor de andrógeno superior, que dio como resultado la realización de la presente invención.

Conforme a ello, la presente invención se refiere a

[1] un compuesto representado por la fórmula (I)



(I)

en donde

R^1 es un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno, un grupo a través de un átomo de carbono, un grupo a través de un átomo de nitrógeno, un grupo a través de un átomo de oxígeno o un grupo a través de un átomo de azufre;

R^2 es un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno, un grupo a través de un átomo de carbono, un grupo a través de un átomo de nitrógeno, un grupo a través de un átomo de oxígeno o un grupo a través de un átomo de azufre;

R^3 es un grupo extractor de electrones;

R^4 es un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno, un grupo a través de un átomo de carbono, un grupo a través de un átomo de nitrógeno, un grupo a través de un átomo de oxígeno o un grupo a través de un átomo de azufre;

R^5 es un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno, un grupo a través de un átomo de carbono, un grupo a través de un átomo de nitrógeno, un grupo a través de un átomo de oxígeno o un grupo a través de un átomo de azufre;

R^6 es un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno, un grupo a través de un átomo de carbono, un grupo a través de un átomo de nitrógeno, un grupo a través de un átomo de oxígeno o un grupo a través de un átomo de azufre;

R^7 es un grupo alquilo que opcionalmente tiene sustituyente(s) o un grupo aralquilo que opcionalmente tiene sustituyente(s);

R^8 es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo que opcionalmente tiene sustituyente(s), un grupo alquenilo que opcionalmente tiene sustituyente(s) o un grupo cicloalquilo que opcionalmente tiene sustituyente(s);

R^9 es un grupo a través de un átomo de oxígeno; y

el Anillo A es un anillo de 5 ó 6 miembros que también tiene opcionalmente sustituyentes (en este caso, el Anillo A puede ser un anillo de 5 ó 6 miembros que forma un enlace espiro con cicloalcano C_{3-6}) o una de sus sales;

[2] el compuesto del punto [1] antes mencionado, en donde el Anillo A es un anillo pirrolidina que también tiene opcionalmente sustituyentes o un anillo piperidina que también tiene opcionalmente sustituyentes (el anillo pirrolidina y el anillo piperidina forman opcionalmente un enlace espiro con cicloalcano C_{3-6});

[3] el compuesto del punto [1] antes mencionado, en donde

R^1 es un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno o un grupo alquilo inferior que opcionalmente tiene sustituyente(s);

R^2 es un átomo de halógeno, un grupo alquilo inferior que opcionalmente tiene sustituyente(s) o un grupo alcoxi inferior que opcionalmente tiene sustituyente(s);

R^3 es un grupo ciano;

R^4 es un átomo de hidrógeno o un átomo de halógeno;

R^5 es un átomo de hidrógeno;

R^6 es un átomo de hidrógeno;

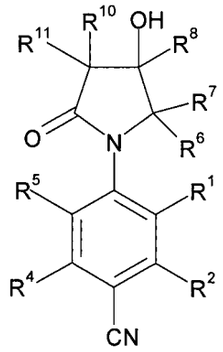
R^7 es un grupo alquilo inferior que opcionalmente tiene sustituyente(s) o un grupo aralquilo que opcionalmente tiene sustituyente(s);

R^8 es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo inferior que opcionalmente tiene sustituyente(s) o un grupo cicloalquilo C_{3-6} que opcionalmente tiene sustituyente(s);

R^9 es un grupo hidroxi; y

el Anillo A es un anillo de 5 miembros (anillo de pirrolidina) que opcionalmente tiene 1 ó 2 sustituyentes seleccionados de un átomo de halógeno, un grupo alquilo inferior que opcionalmente tiene un grupo hidroxi, un grupo alquenilo inferior y un grupo aralquilo o un anillo de 5 miembros (anillo de pirrolidina) que forma un enlace espiro con cicloalcano C_{3-6};

[4] el compuesto del punto [1] antes mencionado, en donde la fórmula (I) es la fórmula (I')



(I')

en donde

R^1 es un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno o un grupo alquilo inferior que opcionalmente tiene sustituyente(s);

R^2 es un átomo de halógeno, un grupo alquilo inferior que opcionalmente tiene átomo(s) de halógeno o un grupo alcoxi inferior que opcionalmente tiene átomo(s) de halógeno;

R^4 es un átomo de hidrógeno o un átomo de halógeno;

R^5 y R^6 son cada uno un átomo de hidrógeno;

R^7 es un grupo alquilo inferior que opcionalmente tiene sustituyente(s) o un grupo aralquilo que opcionalmente tiene sustituyente(s);

R^8 es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo inferior que opcionalmente tiene sustituyente(s) o un grupo cicloalquilo C_{3-6} que opcionalmente tiene sustituyente(s); y

R^{10} y R^{11} son iguales o diferentes y cada uno es un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno, un grupo alquilo inferior que opcionalmente tiene un grupo hidroxi, un grupo alquenilo inferior o un grupo aralquilo;

en este caso, R^{10} y R^{11} pueden formar cicloalcano C_{3-6} junto con el átomo de carbono adyacente;

[5] el compuesto del punto [4] antes mencionado, en donde R^1 es un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno o un grupo alquilo inferior;

R^2 es un átomo de halógeno, un grupo alquilo inferior que opcionalmente tiene átomo(s) de halógeno o un grupo alcoxi inferior que opcionalmente tiene átomo(s) de halógeno;

R^7 es un grupo alquilo inferior que opcionalmente tiene sustituyente(s) seleccionados de un grupo hidroxi, un grupo alcoxi inferior y un grupo cicloalquilo C_{3-6} o un grupo aralquilo que opcionalmente tiene sustituyente(s) seleccionados de un átomo de halógeno y un grupo ciano;

R^8 es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo inferior o un grupo cicloalquilo C_{3-6}; y

R^{10} y R^{11} son iguales o diferentes y cada uno es un átomo de

hidrógeno, un átomo de halógeno, un grupo alquilo inferior, un grupo alquenilo inferior, un grupo aralquilo o un grupo alquilo inferior sustituido con un grupo hidroxilo (en este caso, R^{10} y R^{11} forman opcionalmente ciclopropano junto con el átomo de carbono adyacente);

[6] 4–[(2S,3S)–2–etil–3–hidroxi–5–oxopirrolidin–1–il]–2–(trifluorometil)benzonitrilo o una de sus sales;

[7] 2–cloro–4–[(4S,5S)–4–hidroxi–5–metil–2–oxopirrolidin–1–il]benzonitrilo o una de sus sales;

[8] 4–[(4R,5S)–5–etil–3,3–difluoro–4–hidroxi–2–oxopirrolidin–1–il]–2–metoxibenzonitrilo o una de sus sales;

[9] 2–cloro–4–[(2S,3S,4S)–2–etil–3–hidroxi–4–metil–5–oxopirrolidin–1–il]benzonitrilo o una de sus sales;

[10] 2–cloro–4–[(4R,5S)–5–etil–3,3–difluoro–4–hidroxi–2–oxopirrolidin–1–il]benzonitrilo o una de sus sales;

[11] 4–[(2S,3S)–2–etil–3–hidroxi–5–oxopirrolidin–1–il]–2–(trifluorometil)benzonitrilo;

[12] 2–cloro–4–[(4S,5S)–4–hidroxi–5–metil–2–oxopirrolidin–1–il]benzonitrilo;

[13] 4–[(4R,5S)–5–etil–3,3–difluoro–4–hidroxi–2–oxopirrolidin–1–il]–2–metoxibenzonitrilo;

[14] 2–cloro–4–[(2S,3S,4S)–2–etil–3–hidroxi–4–metil–5–oxopirrolidin–1–il]benzonitrilo;

[15] 2–cloro–4–[(4R,5S)–5–etil–3,3–difluoro–4–hidroxi–2–oxopirrolidin–1–il]benzonitrilo;

[16] un profármaco del compuesto del punto [1] antes mencionado;

[17] un agente farmacéutico que comprende el compuesto del punto [1] antes mencionado o uno de sus profármacos;

[18] el agente farmacéutico del punto [17] antes mencionado, que es un modulador del receptor de andrógeno;

[19] el agente farmacéutico del punto [17] antes mencionado, que es un agonista del receptor de andrógeno;

[20] el agente farmacéutico del punto [1] antes mencionado, que es un modulador del receptor de andrógeno selectivos de tejidos;

[21] el agente farmacéutico del punto [1] antes mencionado, que es un agente para la prevención o el tratamiento de hipogonadismo, trastorno climatérico masculino, debilidad, caquexia u osteoporosis;

[22] el agente farmacéutico del punto [1] antes mencionado, que es un supresor de la debilidad, un mejorador de la fuerza muscular, un agente mejorador de músculos, un supresor de caquexia, un supresor de la reducción del peso corporal, un agente para la prevención o el tratamiento de hipertrofia de próstata, amiotrofia o pérdida muscular causada por una enfermedad o un agente para reducir el peso de la próstata;

[23] un método para la prevención o el tratamiento de hipogonadismo, trastorno climatérico masculino, debilidad, caquexia u osteoporosis en un mamífero, que comprende la administración de una cantidad efectiva del compuesto del punto [1] antes mencionado o uno de sus profármacos;

[24] uso del compuesto del punto [1] antes mencionado o uno de sus profármacos para la producción de un agente para la prevención o el tratamiento de hipogonadismo, trastorno climatérico masculino, debilidad, caquexia u osteoporosis;

y similares.

Las definiciones de los sustituyentes del compuesto (I) se explican a continuación.

Los ejemplos del "átomo de halógeno" para R^1, R^2, R^4, R^5 o R^6 incluyen un átomo de flúor, un átomo de cloro, un átomo de bromo y un átomo de yodo.

Los ejemplos del "grupo a través de un átomo de carbono" para R^1, R^2, R^4, R^5 o R^6 incluyen ciano, un grupo hidrocarburo que opcionalmente tiene sustituyente(s), acilo, carboxilo opcionalmente esterificado, imidoílo que opcionalmente tiene sustituyente(s), amidino que opcionalmente tiene sustituyente(s), carbamoílo que opcionalmente tiene sustituyente(s), tiocarbamoílo que opcionalmente tiene sustituyente(s), un grupo heterocíclico a través de un átomo de carbono, que opcionalmente tiene sustituyente(s), y similares.

Los ejemplos del "grupo hidrocarburo que opcionalmente tiene sustituyente(s)" antes mencionado incluyen alquilo que opcionalmente tiene sustituyente(s), alquenilo que opcionalmente tiene sustituyente(s), alquinilo que opcionalmente tiene sustituyente(s), cicloalquilo que opcionalmente tiene sustituyente(s), arilo que opcionalmente tiene sustituyente(s), aralquilo que opcionalmente tiene sustituyente(s), y similares.

Los ejemplos del "alquilo" del "alquilo que opcionalmente tiene sustituyente(s)" antes mencionado incluyen alquilo inferior (por ejemplo, metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, sec–butilo, ter–butilo, pentilo, hexilo, etc.), y similares. El alquilo inferior es alquilo que tiene una cantidad de carbonos de 1 a 6.

Los ejemplos del sustituyente que puede tener el "alquilo que opcionalmente tiene sustituyente(s)" antes mencionado incluyen

(i) un átomo de halógeno (por ejemplo, átomo de flúor, átomo de cloro, átomo de bromo y átomo de yodo),

(ii) alcoxi C_{1-6} (por ejemplo, metoxi, etoxi, propoxi, isopropoxi, butoxi, isobutoxi, sec–butoxi, ter–butoxi etc.),

(iii) alquenilo C_{2-6} (por ejemplo, vinilo, alilo, etc.),

(iv) alquinilo C_{2-6} (por ejemplo, etinilo, propargilo, etc.),

(v) amino,

(vi) mono–alquil C_{1-6}–amino (por ejemplo, metilamino, etilamino,

propilamino, etc.),

(vii) di–alquil C_{1-6}–amino (por ejemplo, dimetilamino, dietilamino, dipropilamino, etc.),

(viii) mono–alquil C_{1-6}–carbonilamino (por ejemplo, acetilamino, etilcarbonilamino, etc.),

(ix) di(alquil C_{1-6}–carbonil)amino (por ejemplo, di(acetil)amino, di(etilcarbonil)amino, di(propilcarbonil)amino, etc.),

(x) hidroxi,

(xi) ciano,

(xii) amidino,

(xiii) carboxilo,

(xiv) alcoxi C_{1-6}–carbonilo (por ejemplo, metoxicarbonilo, etoxicarbonilo, propoxicarbonilo, etc.),

(xv) carbamoílo,

(xvi) mono–alquil C_{1-6}–carbamoílo (por ejemplo, metilcarbamoílo, etilcarbamoílo, etc.)

(xvii) di–alquil C_{1-6}–carbamoílo (por ejemplo, dimetilcarbamoílo, dietilcarbamoílo, etc.),

(xviii) aminocarbonilo cíclico (por ejemplo, 1–azetinilcarbonilo, piperidinocarbonilo, morfolinocarbonilo, etc.),

(xix) ureído,

(xx) alquil C_{1-6}–ureído (por ejemplo, metilureído, etilureído, etc.),

(xxi) cicloalquilo C_{3-6} (por ejemplo, ciclopropilo, etc.), y similares y 1 a 3 sustituyentes pueden estar presentes en posiciones sustituibles.

Los ejemplos del "alquenilo" del "alquenilo que opcionalmente tiene sustituyente(s)" antes mencionado incluyen alquenilo inferior (por ejemplo, vinilo, alilo, 2–metilprop–2–en–1–ilo, etc.), y similares. El alquenilo inferior es alquenilo que tiene una cantidad de carbonos de 2 a 6.

Los ejemplos del sustituyente que puede tener el "alquenilo que opcionalmente tiene sustituyente(s)" antes mencionado incluyen aquellos similares a los sustituyentes que puede tener el "alquilo que opcionalmente tiene sustituyente(s)" antes mencionado, alquilo inferior (por ejemplo, metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, sec–butilo, ter–butilo, pentilo, hexilo, etc.), y similares y 1 a 3 sustituyentes pueden estar presentes en posiciones sustituibles.

Los ejemplos del "alquinilo" del "alquinilo que opcionalmente tiene sustituyente(s)" antes mencionado incluyen alquinilo inferior (por ejemplo, etinilo, propargilo, etc.), y similares. El alquinilo inferior es alquinilo que tiene una cantidad de carbonos de 2 a 6.

Los ejemplos del sustituyente que puede tener el "alquinilo que opcionalmente tiene sustituyente(s)" antes mencionado incluyen aquellos similares a los sustituyentes que puede tener el "alquenilo que opcionalmente tiene sustituyente(s)" antes mencionado, y similares y 1 a 3 sustituyentes pueden estar presentes en posiciones sustituibles.

Los ejemplos del "cicloalquilo" del "cicloalquilo que opcionalmente tiene sustituyente(s)" antes mencionado incluyen cicloalquilo C_{3-8} (por ejemplo, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, ciclooctilo, etc.), y similares.

Los ejemplos del sustituyente que puede tener el "cicloalquilo que opcionalmente tiene sustituyente(s)" antes mencionado incluyen aquellos similares al sustituyente que puede tener el "alquenilo que opcionalmente tiene sustituyente(s)" antes mencionado, y similares y 1 a 3 sustituyentes pueden estar presentes en posiciones sustituibles.

Los ejemplos del "arilo" del "arilo que opcionalmente tiene sustituyente(s)" antes mencionado incluyen arilo C_{6-14} (por ejemplo, fenilo, naftilo, antrilo, etc.), y similares.

Los ejemplos del sustituyente que puede tener el "arilo que opcionalmente tiene sustituyente(s)" antes mencionado incluyen

aquellos similares a los sustituyentes que puede tener el "alquenilo que opcionalmente tiene sustituyente(s)" antes mencionado, y similares y 1 a 3 sustituyentes pueden estar presentes en posiciones sustituibles.

Los ejemplos del "aralquilo" del "aralquilo que opcionalmente tiene sustituyente(s)" antes mencionado incluyen aralquilo C_{7-14} (por ejemplo, bencilo, feniletilo, naftilmetilo, etc.), y similares.

Los ejemplos del sustituyente que puede tener el "aralquilo que opcionalmente tiene sustituyente(s)" antes mencionado incluyen aquellos similares a los sustituyentes que puede tener el "alquenilo que opcionalmente tiene sustituyente(s)" antes mencionados, y similares y 1 a 3 sustituyentes pueden estar presentes en posiciones sustituibles.

Los ejemplos del "acilo" antes mencionado incluyen un grupo formado por unión del "grupo hidrocarburo que opcionalmente tiene sustituyente(s)" antes mencionado con carbonilo.

Los ejemplos del "carboxilo opcionalmente esterificado" antes mencionado incluyen carboxilo opcionalmente esterificado por el "grupo hidrocarburo que opcionalmente tiene sustituyente(s)" antes mencionado.

Los ejemplos del "imidoílo que opcionalmente tiene sustituyente(s)" antes mencionado incluyen imidoílo que opcionalmente tiene 1 ó 2 del "grupo hidrocarburo que opcionalmente tiene sustituyente(s)" antes mencionado.

Los ejemplos del "amidino que opcionalmente tiene sustituyente(s)" antes mencionado incluyen amidino que opcionalmente tiene 1 a 3 del "grupo hidrocarburo que opcionalmente tiene sustituyente(s)" antes mencionado.

Los ejemplos del "carbamoílo que opcionalmente tiene sustituyente(s)" antes mencionado incluyen carbamoílo que opcionalmente tiene 1 ó 2 del "grupo hidrocarburo que opcionalmente

tiene sustituyente(s)" antes mencionado.

Los ejemplos del "tiocarbamoílo que opcionalmente tiene sustituyente(s)" antes mencionado incluyen tiocarbamoílo que opcionalmente tiene 1 ó 2 del "grupo hidrocarburo que opcionalmente tiene sustituyente(s)" antes mencionado.

Como el "grupo heterocíclico a través de un átomo de carbono" del "grupo heterocíclico a través de un átomo de carbono, que opcionalmente tiene sustituyente(s)" antes mencionado, se usan un grupo heterocíclico aromático o un grupo heterocíclico no aromático saturado o insaturado (grupo heterocíclico alifático), donde cada uno contiene, como átomo constituyente del anillo (átomo del anillo), además de átomos de carbono, al menos uno, con preferencia 1 a 4, con mayor preferencia 1 ó 2 heteroátomos de 1 a 3 tipos (con preferencia 1 ó 2 tipos) seleccionados de un átomo de oxígeno, un átomo de azufre, un átomo de nitrógeno, y similares y que tiene un enlace en un átomo de carbono, y similares.

Como el "grupo heterocíclico aromático", se usan, por ejemplo, un grupo heterocíclico aromático monocíclico de 5 ó 6 miembros tales como furilo, tienilo, pirrolilo, oxazolilo, isoxazolilo, tiazolilo, isotiazolilo, imidazolilo, pirazolilo, 1,2,3–oxadiazolilo, 1,2,4–oxadiazolilo, 1,3,4–oxadiazolilo, furazanilo, 1,2,3–tiadiazolilo, 1,2,4–tiadiazolilo, 1,3,4–tiadiazolilo, 1,2,3–triazolilo, 1,2,4–triazolilo, tetrazolilo, piridilo, piridazinilo, pirimidinilo, pirazinilo, triazinilo, y similares y, por ejemplo, un grupo heterocíclico aromático policíclico condensado de 8 a 12 miembros tales como benzofuranilo, isobenzofuranilo, benzo[b]tienilo, indolilo, isoindolilo, 1H–indazolilo, bencimidazolilo, benzoxazolilo, 1,2–benzoisoxazolilo, benzotiazolilo, benzopiranilo, 1,2–benzoisotiazolilo, 1H–benzotriazolilo, quinolilo, isoquinolilo, cinolinilo, quinazolinilo, quinoxalinilo, ftalazinilo, naftiridinilo, purinilo, pteridinilo, carbazolilo, α–carbolinilo, β–carbolinilo, γ–carbolinilo, acridinilo, fenoxazinilo, fenotiazinilo,

fenazinilo, fenoxatiinilo, tiantrenilo, fenantridinilo, fenantrolinilo, indolizinilo, pirrolo[1,2–b]piridazinilo, pirazolo[1,5–a]piridilo, imidazo[1,2–a]piridilo, imidazo[1,5–a]piridilo, imidazo[1,2–b]piridazinilo, imidazo[1,2–a]pirimidinilo, 1,2,4–triazolo[4,3–a]piridilo, 1,2,4–triazolo[4,3–b]piridazinilo, y similares y otros.

Como el "grupo heterocíclico no aromático", se usan, por ejemplo, un grupo heterocíclico no aromático (grupo heterocíclico alifático) de 3 a 8 miembros (con preferencia de 5 ó 6 miembros) saturado o insaturado (con preferencia saturado) tales como oxiranilo, azetidinilo, oxetanilo, tietanilo, pirrolidinilo, tetrahidrofurilo, tiolanilo, piperidilo, tetrahidropiranilo, morfolinilo, tiomorfolinilo, piperazinilo, y similares y otros o un grupo heterocíclico no aromático en el que el enlace doble del grupo heterocíclico aromático monocíclico o grupo heterocíclico aromático policíclico condensado antes mencionado está parcial o totalmente saturado tales como 1,2,3,4–tetrahidroquinolilo, 1,2,3,4–tetrahidroisoquinolilo, y similares y otros.

Los ejemplos del sustituyente que puede tener el "grupo heterocíclico a través de un átomo de carbono, que opcionalmente tiene sustituyente(s)" antes mencionado incluyen aquellos similares a los sustituyentes que puede tener el "grupo alquenilo que opcionalmente tiene sustituyente(s)" antes mencionado, y similares y 1 a 3 sustituyentes pueden estar presentes en posiciones sustituibles.

Los ejemplos del "grupo a través de un átomo de nitrógeno" para R^1, R^2, R^4, R^5 o R^6 incluyen (i) amino, (ii) amino mono–sustituido con el "grupo a través de un átomo de carbono" antes mencionado y (iii) amino di–sustituido con el "grupo a través de un átomo de carbono" antes mencionado y alquilo C_{1-6} (por ejemplo, metilo, etilo, propilo, etc.), y similares.

Los ejemplos del "grupo a través de un átomo de oxígeno" para R^1, R^2, R^4, R^5, R^6 o R^9 incluyen hidroxilo opcionalmente sustituido

con el "grupo a través de un átomo de carbono" antes mencionado, y similares.

Los ejemplos del "grupo a través de un átomo de azufre" para R^1, R^2, R^4, R^5 o R^6 incluyen tiol opcionalmente sustituido con el "grupo a través de un átomo de carbono" antes mencionado, y similares. El tiol puede estar oxidado.

El "grupo extractor de electrones" para R^3 significa en general un grupo que tiene una tendencia a atraer un electrón de otros en base a un hidrógeno en una molécula y no está particularmente limitado siempre que se use en la química orgánica. Por ejemplo, se pueden mencionar ciano, nitro, átomo de halógeno (por ejemplo, átomo de flúor, átomo de cloro, átomo de bromo, átomo de yodo), acilo (similar al "acilo" antes mencionado), carboxilo opcionalmente esterificado (similar al "carboxilo opcionalmente esterificado") antes mencionado, carbamoílo opcionalmente sustituido (similar al "carbamoílo opcionalmente sustituido") antes mencionado o alquilo C_{1-6} sustituido con 1 a 5 átomos de halógeno (por ejemplo, fluorometilo, clorometilo, difluorometilo, diclorometilo, trifluorometilo, triclorometilo, etc.), y similares.

Los ejemplos del "grupo alquilo que opcionalmente tiene sustituyente(s)" para R^7 o R^8 incluyen aquellos similares al "alquilo que opcionalmente tiene sustituyente(s)" antes mencionado.

Los ejemplos del "grupo aralquilo que opcionalmente tiene sustituyente(s)" para R^7 incluyen aquellos similares al "aralquilo que opcionalmente tiene sustituyente(s)" antes mencionado.

Los ejemplos del "grupo alquenilo que opcionalmente tiene sustituyente(s)" para R^8 incluyen aquellos similares al "alquenilo que opcionalmente tiene sustituyente(s)" antes mencionado.

Los ejemplos del "grupo cicloalquilo que opcionalmente tiene sustituyente(s)" para R^8 incluyen aquellos similares al "cicloalquilo que opcionalmente tiene sustituyente(s)" antes mencionado.

El Anillo A es un anillo de 5 ó 6 miembros que opcionalmente tiene sustituyente(s) además de R^6 a R^9. Los ejemplos del Anillo A incluyen un anillo pirrolidina y un anillo piperidina.

Los ejemplos del sustituyente que también puede tener el Anillo A incluyen aquellos similares a los sustituyentes que puede tener el "alquenilo que opcionalmente tiene sustituyente(s)" antes mencionado, alquilo inferior que tiene hidroxi (por ejemplo, hidroximetilo, 1–hidroxi–1–metiletilo, etc.), alquenilo inferior (por ejemplo, vinilo, alilo, 2–metilprop–2–en–1–ilo, etc.), arilo C_{6-14} (por ejemplo, fenilo, naftilo, antrilo, etc.), aralquilo C_{7-14} (por ejemplo, bencilo, feniletilo, naftilmetilo, etc.), y similares y 1 a 3 sustituyentes pueden estar presentes en posiciones sustituibles. Además, el Anillo A forma opcionalmente un enlace espiro con cicloalcano C_{3-6} (por ejemplo, ciclopropano, ciclobutano, ciclohexano).

Se prefiere como R^1 un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno o un grupo alquilo inferior que opcionalmente tiene sustituyente(s). De ellos, se prefieren (i) un átomo de hidrógeno, (ii) un átomo de halógeno o (iii) un grupo alquilo inferior. En particular, se prefieren (i) un átomo de hidrógeno, (ii) un átomo de flúor o (iii) metilo.

Se prefieren como R^2 un átomo de halógeno, un grupo alquilo inferior que opcionalmente tiene sustituyente(s) o un grupo alcoxi inferior que opcionalmente tiene sustituyente(s). De ellos, se prefieren un átomo de halógeno, un grupo alquilo inferior que opcionalmente tiene átomo(s) de halógeno o un grupo alcoxi inferior que opcionalmente tiene átomo(s) de halógeno. En particular, se prefieren un átomo de flúor, un átomo de cloro, metilo que opcionalmente tiene átomo(s) de flúor (por ejemplo, trifluorometilo, etc.) o metoxi.

Se prefiere como R^3 un grupo ciano.

Se prefieren como R^4 un átomo de hidrógeno o un átomo de halógeno. De ellos, se prefieren un átomo de hidrógeno o un átomo de flúor.

Se prefiere como R^5 un átomo de hidrógeno.

Se prefiere como R^6 un átomo de hidrógeno.

Se prefieren como R^7 un grupo alquilo inferior que opcionalmente tiene sustituyente(s) o un grupo aralquilo que opcionalmente tiene sustituyente(s). De ellos, se prefieren un grupo alquilo inferior que opcionalmente tiene sustituyente(s) seleccionados de un grupo alcoxi inferior, un grupo hidroxi y un grupo cicloalquilo C_{3-6} o un grupo aralquilo que opcionalmente tiene sustituyente(s) seleccionados de un átomo de halógeno y un grupo ciano. En particular, se prefieren (1) metilo que opcionalmente tiene sustituyente(s) seleccionados de metoxi, hidroxi y ciclopropilo, (2) etilo, (3) n–propilo, (4) isopropilo, (5) isobutilo o (6) bencilo que opcionalmente tiene sustituyente(s) seleccionados de un átomo de flúor y ciano.

Se prefieren como R^8 un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo inferior que opcionalmente tiene sustituyente(s) o un grupo cicloalquilo C_{3-6} que opcionalmente tiene sustituyente(s). De ellos, se prefieren un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo inferior o un grupo cicloalquilo C_{3-6}. En particular, se prefieren un átomo de hidrógeno, metilo o ciclopropilo.

Se prefiere como R^9 un grupo hidroxi.

Se prefiere como Anillo A un anillo de 5 miembros (anillo de pirrolidina) que opcionalmente también tiene, además de R^6 a R^9, 1 ó 2 sustituyentes seleccionados de un átomo de halógeno, un grupo alquilo inferior que opcionalmente tiene un grupo hidroxi, un grupo alquenilo inferior y un grupo aralquilo o un anillo de 5 miembros (anillo de pirrolidina) que forma un enlace espiro con cicloalcano C_{3-6}. De ellos, se prefieren un anillo de 5 miembros (anillo de pirrolidina)

que opcionalmente tiene, además de R^6 a R^9, 1 ó 2 sustituyentes seleccionados de un átomo de flúor, metilo, etilo, 1–hidroxi–1–metiletilo, isobutilo, 2–metilprop–2–en–1–ilo y bencilo o un anillo de 5 miembros (anillo de pirrolidina) que forma un enlace espiro con ciclopropano.

Se prefiere como compuesto (I) un compuesto en donde

R^1 es un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno o un grupo alquilo inferior que opcionalmente tiene sustituyente(s);

R^2 es un átomo de halógeno, un grupo alquilo inferior que opcionalmente tiene sustituyente(s) o un grupo alcoxi inferior que opcionalmente tiene sustituyente(s);

R^3 es un grupo ciano;

R^4 es un átomo de hidrógeno o un átomo de halógeno;

R^5 es un átomo de hidrógeno;

R^6 es un átomo de hidrógeno;

R^7 es un grupo alquilo inferior que opcionalmente tiene sustituyente(s) o un grupo aralquilo que opcionalmente tiene sustituyente(s);

R^8 es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo inferior que opcionalmente tiene sustituyente(s) o un grupo cicloalquilo C_{3-6} que opcionalmente tiene sustituyente(s);

R^9 es un grupo hidroxi; y

el Anillo A es un anillo de 5 miembros (anillo de pirrolidina) que opcionalmente tiene 1 ó 2 sustituyentes seleccionados de un átomo de halógeno, un grupo alquilo inferior que opcionalmente tiene un grupo hidroxi, un grupo alquenilo inferior y un grupo aralquilo o un anillo de 5 miembros (anillo de pirrolidina) que forma un enlace espiro con cicloalcano C_{3-6}.

En particular, se prefiere un compuesto en donde

R^1 es (i) un átomo de hidrógeno, (ii) un átomo de halógeno o (iii) un grupo alquilo inferior;

R^2 es un átomo de halógeno, un grupo alquilo inferior que opcionalmente tiene átomo(s) de halógeno o un grupo alcoxi inferior que opcionalmente tiene átomo(s) de halógeno;

R^3 es un grupo ciano;

R^4 es un átomo de hidrógeno o un átomo de halógeno;

R^5 es un átomo de hidrógeno;

R^6 es un átomo de hidrógeno;

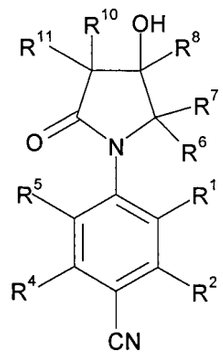
R^7 es un grupo alquilo inferior que opcionalmente tiene sustituyente(s) o un grupo aralquilo que opcionalmente tiene sustituyente(s);

R^8 es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo inferior o un grupo cicloalquilo C_{3-6};

R^9 es un grupo hidroxi; y

el Anillo A es con preferencia un anillo de 5 miembros (anillo de pirrolidina) que también tiene opcionalmente, además de R^6 a R^9, 1 ó 2 sustituyentes seleccionados de un átomo de halógeno, un grupo alquilo inferior que opcionalmente tiene un grupo hidroxi, un grupo alquenilo inferior y un grupo aralquilo o un anillo de 5 miembros (anillo de pirrolidina) que forma un enlace espiro con ciclopropano.

Por otra parte, se prefiere un compuesto de la fórmula (I')



(I')

en donde

R^1 es un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno o un grupo alquilo inferior que opcionalmente tiene sustituyente(s);

R^2 es un átomo de halógeno, un grupo alquilo inferior que opcionalmente tiene átomo(s) de halógeno o un grupo alcoxi inferior que opcionalmente tiene átomo(s) de halógeno;

R^4 es un átomo de hidrógeno o un átomo de halógeno;

R^5 y R^6 son cada uno un átomo de hidrógeno;

R^7 es un grupo alquilo inferior que opcionalmente tiene sustituyente(s) o un grupo aralquilo que opcionalmente tiene sustituyente(s);

R^8 es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo inferior que opcionalmente tiene sustituyente(s) o un grupo cicloalquilo C_{3-6} que opcionalmente tiene sustituyente(s); y

R^{10} y R^{11} son iguales o diferentes y cada uno es un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno, un grupo alquilo inferior que opcionalmente tiene un grupo hidroxi, un grupo alquenilo inferior o un grupo aralquilo;

en donde R^{10} y R^{11} pueden formar cicloalcano C_{3-6} junto con el átomo de carbono adyacente.

Se prefiere como compuesto (I') un compuesto en donde

R^1 es un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno (por ejemplo, átomo de flúor) o un grupo alquilo inferior (por ejemplo, metilo);

R^2 es un átomo de halógeno (por ejemplo, átomo de flúor, átomo de cloro), un grupo alquilo inferior que opcionalmente tiene átomo(s) de halógeno (por ejemplo, trifluorometil) o un grupo alcoxi inferior que opcionalmente tiene átomo(s) de halógeno (por ejemplo, metoxi);

R^7 es un grupo alquilo inferior (por ejemplo, metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, isobutilo) que opcionalmente tiene sustituyente(s) seleccionados de un grupo hidroxi, un grupo alcoxi inferior (por ejemplo, metoxi) y un grupo cicloalquilo C_{3-6} (por ejemplo, ciclopropilo) o un grupo aralquilo (por ejemplo, bencilo) que

opcionalmente tiene sustituyente(s) seleccionados de un átomo de halógeno (por ejemplo, átomo de flúor) y un grupo ciano;

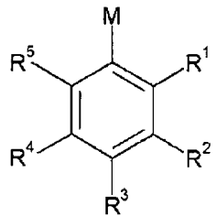
R^8 es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo inferior (por ejemplo, metilo) o un grupo cicloalquilo C_{3-6} (por ejemplo, ciclopropilo); y

R^{10} y R^{11} son iguales o diferentes y cada uno es un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno (por ejemplo, átomo de flúor), un grupo alquilo inferior (por ejemplo, metilo, etilo, isobutilo), un grupo alquenilo inferior (por ejemplo, 2–metilprop–2–en–1–ilo, etc.), un grupo aralquilo (por ejemplo, bencilo), un grupo alquilo inferior sustituido con un grupo hidroxi (por ejemplo, 1–hidroxi–1–metiletil) (en este caso, R^{10} y R^{11} pueden formar ciclopropano junto con el átomo de carbono adyacente).

Se prefieren como compuesto (I) más específicamente los compuestos descritos en los Ejemplos 1 a 84 mencionados más abajo y sus sales.

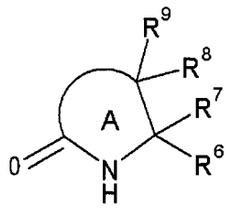
Los métodos de producción del compuesto (I) se describen a continuación. El compuesto (I) se puede producir por medio de un método de síntesis orgánica general o de acuerdo con un método de síntesis conocido (por ejemplo, documento WO 2004–016576).

El compuesto (I) se puede producir, por ejemplo, haciendo reaccionar un compuesto representado por la fórmula (II)



(II)

en donde M es un grupo saliente y los demás símbolos son como se definieron con anterioridad, con un compuesto representado por la fórmula (III)



(III)

en donde cada símbolo es como se definió con anterioridad, en presencia de un catalizador de paladio y un ligando apropiado y eliminando un grupo protector si está presente.

Los compuestos (II) y (III) para usar como materiales de partida se pueden sinterizar de acuerdo con un método conocido o un método análogo, por ejemplo, de acuerdo con los métodos indicados en los siguientes Ejemplos de referencia.

Los compuestos (II) y (III) antes mencionados también incluyen sus sales y como tales sales, se usan aquellas similares a las sales del compuesto (I), y similares. Además, los grupos en los compuestos (II) y (III) pueden estar protegidos por grupos protectores usados en general en síntesis orgánicas y, si se desea, los grupos protectores se pueden eliminar después de la reacción, de acuerdo con métodos conocidos.

Como el "grupo saliente" para M, se pueden usar, por ejemplo, un halógeno tales como cloro, bromo, yodo, y similares, trifluorometansulfoniloxi, y similares.

El compuesto (III) se usa en general en una cantidad de 1 a 3 moles por 1 mol de compuesto (II). La reacción también procede suavemente por adición, de ser necesario, de una base tales como carbonato de litio, carbonato de potasio, carbonato de sodio, carbonato de cesio, carbonato hidrogenado de sodio, hidróxido de sodio, ter–butóxido de sodio, ter–butóxido de potasio, trietilamina, y similares.

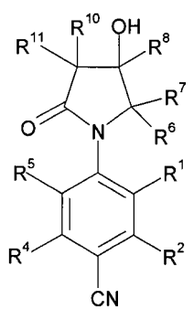
Como el catalizador de paladio, se pueden usar acetato de paladio (II), tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0), y similares. De ellos, se prefiere tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0).

Como ligando para usar en la reacción, se pueden usar tris(orto–tolil)fosfina, BINAP, 1,1'–bis(difenilfosfino)ferroceno, 4,5–bis(difenilfosfino)–9,9–dimetilxanteno, y similares. De ellos, se prefiere 4,5–bis(difenilfosfino)–9,9–dimetilxanteno.

La reacción se puede llevar a cabo en un solvente inerte, por ejemplo, tetrahidrofurano, éter dietílico, 1,2–dimetoxietano, 1,4–dioxano, tolueno, benceno, xileno, N,N–dimetilformamida (DMF), etc. o uno de sus solventes mixtos. La reacción se puede llevar a cabo en un rango de temperatura de aproximadamente 0 °C a 180 °C. El tiempo de reacción no está particularmente limitado, pero es en general de 0,1 h a 100 h, con preferencia de 0,5 h a 72 h.

Más aún, uno o varios sustituyentes en el Anillo A en el compuesto (I) se pueden convertir en otros sustituyentes. Por ejemplo, es posible reducir un grupo carbonilo en alcohol, llevar el alcohol a olefina por deshidratación o alquilar el alcohol en éter de acuerdo con un método conocido *per se*.

Cuando el compuesto (I) es un compuesto representado por la fórmula (I')



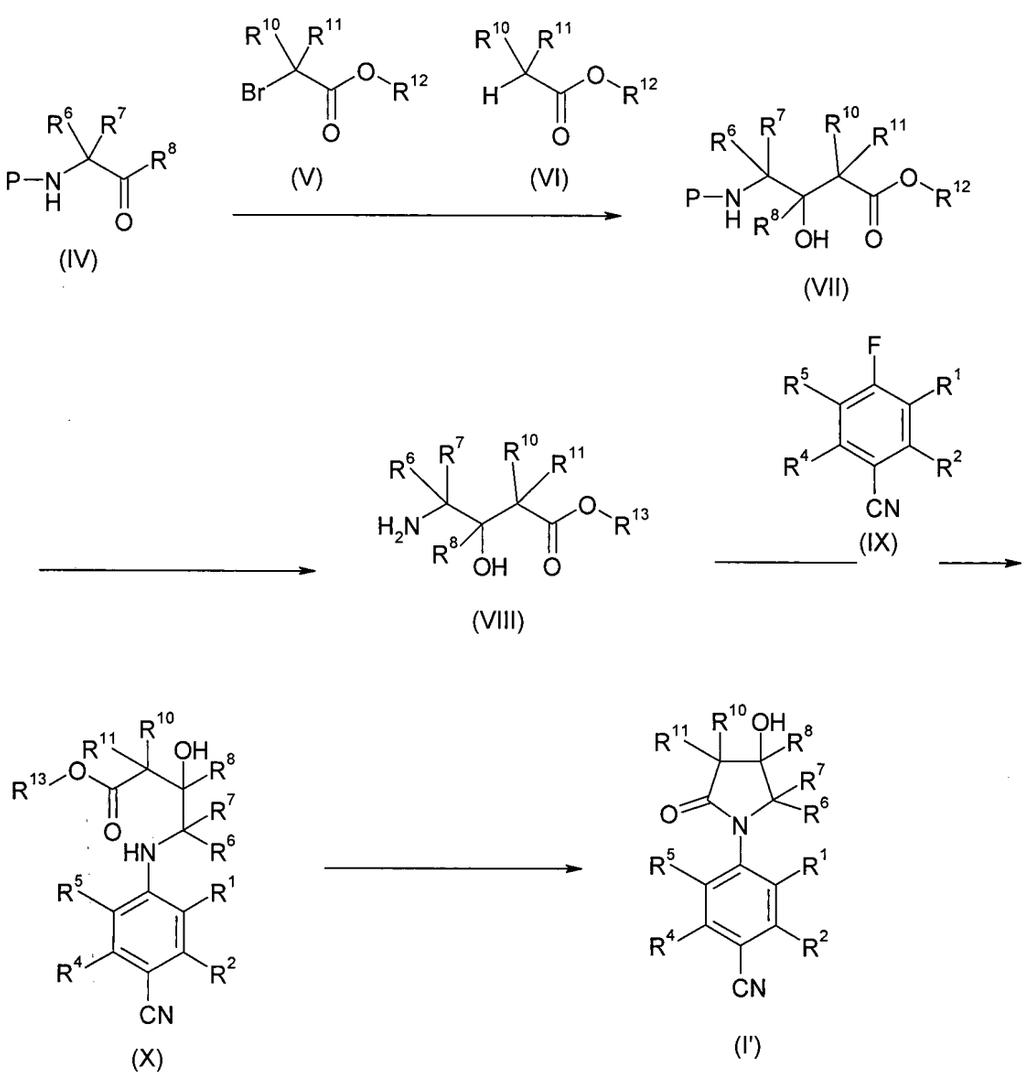
(I')

en donde cada símbolo es como se definió con anterioridad, el compuesto (I') se puede producir, por ejemplo, de acuerdo con cualquiera de los siguientes métodos de síntesis 1 a 3 o un método de síntesis análogo.

Los compuestos (IV) a (XVI) en métodos de síntesis 1 a 3 también incluyen sus sales y como tales sales, se usan aquellas similares a las sales del compuesto (I), y similares. Además, los grupos en los compuestos (IV) a (XVI) pueden estar protegidos por grupos protectores usados en general para las síntesis orgánicas y, si se desea, los grupos protectores se pueden eliminar después de la reacción, de acuerdo con métodos conocidos.

A continuación se muestra una representación simplificada del método de reacción 1.

Método de reacción 1



El compuesto (VII), en donde cada símbolo es como se definió con anterioridad, se puede sinterizar de acuerdo con un método de

síntesis conocido (por ejemplo, J. R. Luly, et al., J. Org. Chem., 52, 1487–1492 (1987), A. Wyslouch., et al., Tetrahedron Asymmetry, 3, 1401–1410 (1992), S. Steurer, et al., Eur. J. Org. Chem., 1551–1560 (1999), D. Schirlin, et al., Tetrahedron, 52, 305–318 (1996)) o un método análogo.

El compuesto (VII) se puede producir haciendo reaccionar el compuesto (IV), en donde R^6 a R^8 son como se definieron con anterioridad y P es un grupo protector de amino, con el compuesto (V) o el compuesto (VI) en donde R^{10} y R^{11} son como se definieron con anterioridad y R^{12} es alquilo inferior tales como ter–butilo, y similares.

Como el grupo protector de amino para P, se usan los grupos protectores descritos en Theodora W. Greene, Peter G. M. Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis tercera edición, páginas 494 – 653. Entre los descritos, se prefieren un grupo benciloxicarbonilo (grupo Z) o un grupo ter–butoxicarbonilo (grupo Boc).

Cuando se usa el compuesto (V), se puede llevar a cabo una reacción de acuerdo con las condiciones de una reacción de Reformatsky (por ejemplo, Org. React., 22, 423 (1975); Synthesis, 571 (1989)).

El compuesto (V) se usa en general en 1 a 3 moles por 1 mol de compuesto (IV).

El compuesto (VII) se puede producir haciendo reaccionar el compuesto (IV) con un reactivo de Reformatsky preparado a partir del compuesto (V) y en general 1 a 3 moles de cinc por 1 mol de compuesto (V).

Para preparar un reactivo de Reformatsku, es efectiva la copresencia en general de 0,1 a 1 moles de cloruro de trimetilsililo o cloruro de cobre (I) por 1 mol de compuesto (V).

La reacción se puede llevar a cabo en un solvente inerte, tales como tetrahidrofurano, éter dietílico, 1,2–dimetoxietano, 1,4–dioxano,

tolueno, benceno, xileno, y similares y uno de sus solventes mixtos. La reacción se lleva a cabo dentro de un rango de temperatura de aproximadamente –40 °C a 100 °C. Como el tiempo de reacción no está limitado de manera particular, es en general de 0,1 h a 100 h, con preferencia de 0,5 h a 72 h.

Cuando se usa el compuesto (VI), el compuesto (VII) se puede producir haciendo reaccionar el compuesto (VI) con una base tales como diisopropilamida de litio, y similares y luego haciendo reaccionar el compuesto resultante con el compuesto (IV).

Como base, se pueden usar hexametildisilazida de litio, hexametildisilazida de sodio, hexametildisilazida de potasio, y similares además de diisopropilamida de litio. La cantidad para usar es en general de 1 a 5 moles por 1 mol de compuesto (VI).

La reacción se puede llevar a cabo en un solvente inerte, tales como tetrahidrofurano, éter dietílico, 1,2–dimetoxietano, 1,4–dioxano, tolueno, benceno, xileno, y similares y uno de sus solventes mixtos. La reacción se lleva a cabo dentro de un rango de temperatura de aproximadamente –40 °C a 100 °C, con preferencia de –40 °C a 25 °C. Como el tiempo de reacción no está limitado de manera particular, es en general de 0,1 h a 100 h, con preferencia de 0,5 h a 72 h.

El compuesto (VIII) en donde R^6 a R^{11} son como se definieron con anterioridad y R^{13} es un átomo de hidrógeno, alquilo inferior tales como ter–butilo, y similares se puede producir eliminando un grupo protector de amino P del compuesto (VII) de acuerdo con el método descrito, por ejemplo, en Theodora W. Greene, Peter G. M. Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis tercera edición, páginas 494 a 653, o un método análogo.

La pureza se puede mejorar por recristalización de una sal del compuesto (VIII) con un ácido inorgánico u orgánico. Como la sal de un ácido inorgánico, se usa una sal con ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido nítrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, y

similares. Como la sal con un ácido orgánico, se usa una sal con ácido fórmico, ácido acético, ácido trifluoroacético, ácido ftálico, ácido fumárico, ácido oxálico, ácido tartárico, ácido maleico, ácido cítrico, ácido succínico, ácido málico, ácido metansulfónico, ácido bencensulfónico, ácido p–toluensulfónico, y similares.

El compuesto (X), en donde cada símbolo es como se definió con anterioridad, se puede producir haciendo reaccionar el compuesto (VIII) con el compuesto (IX).

El compuesto (IX) se usa en general en 1 a 3 moles por 1 mol de compuesto (VIII). La reacción también se puede llevar a cabo lentamente por adición, de ser necesario, de una base tales como carbonato de litio, carbonato de potasio, carbonato de sodio, carbonato de cesio, carbonato hidrogenado de sodio, hidróxido de sodio, ter–butóxido de sodio, ter–butóxido de potasio, trietilamina, diisopropilamina, y similares en 1 a 3 moles por 1 mol de compuesto (IX).

La reacción se puede llevar a cabo en un solvente inerte, tales como tetrahidrofurano, éter dietílico, 1,2–dimetoxietano, 1,4–dioxano, tolueno, benceno, xileno, dimetilformamida, dimetilsulfóxido, y similares y uno de sus solventes mixtos. La reacción se lleva a cabo dentro de un rango de temperatura de aproximadamente –40 °C a 120 °C, con preferencia de 25 °C a 100 °C. Como el tiempo de reacción no está limitado de manera particular, es en general de 0,1 h a 100 h, con preferencia de 0,5 h a 72 h.

El compuesto (I'), en donde cada símbolo es como se definió con anterioridad, se puede producir por medio de una reacción de ciclación del compuesto (X).

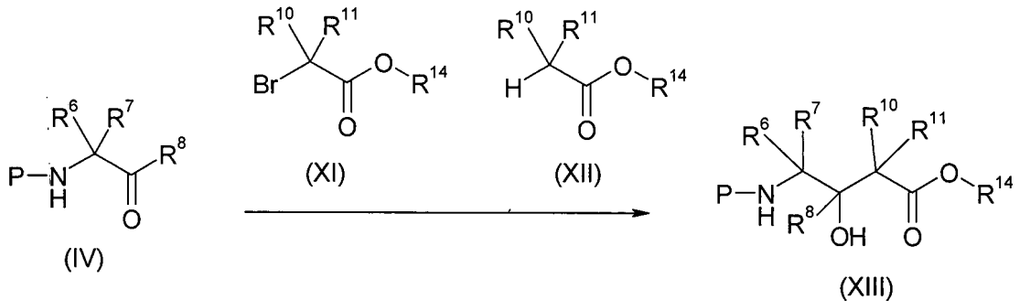
La reacción se puede llevar a cabo en un solvente inerte, tales como tetrahidrofurano, éter dietílico, 1,2–dimetoxietano, 1,4–dioxano, tolueno, benceno, xileno, dimetilformamida, dimetilsulfóxido, ácido acético, ácido trifluoroacético, y similares y uno de sus solventes

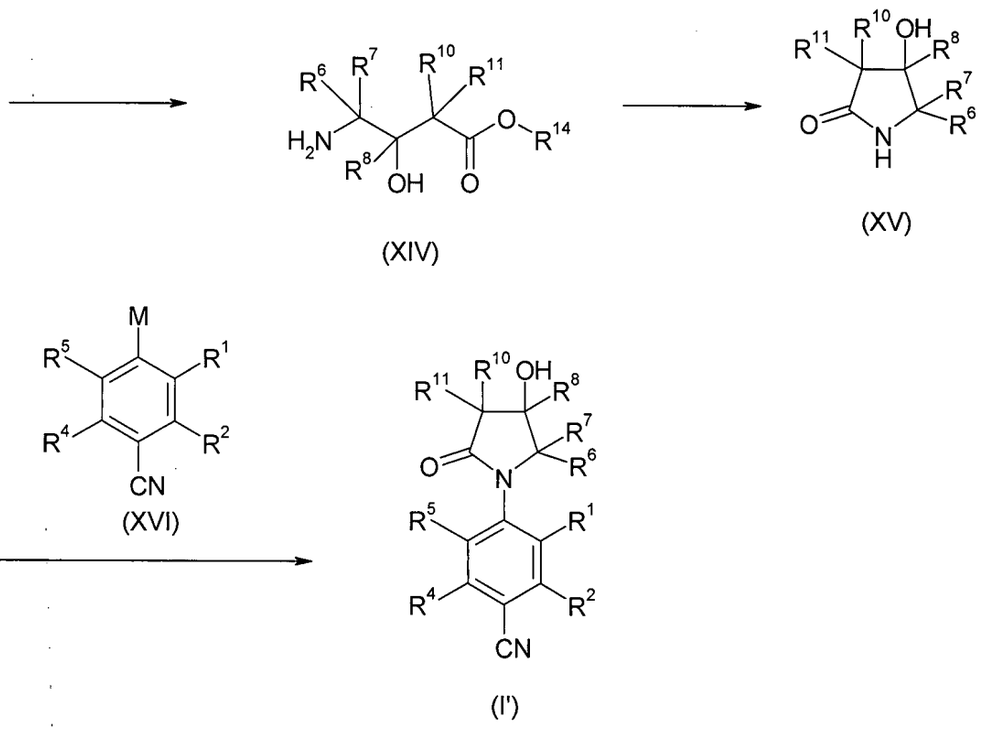
mixtos. La reacción se lleva a cabo dentro de un rango de temperatura de aproximadamente 0 °C a 120 °C, con preferencia de 25 °C a 80 °C. Como el tiempo de reacción no está limitado de manera particular, es en general de 0,1 h a 100 h, con preferencia de 0,5 h a 72 h.

La reacción se puede llevar a cabo lentamente por adición, de ser necesario, de una base tales como carbonato de litio, carbonato de potasio, carbonato de sodio, carbonato de cesio, carbonato hidrogenado de sodio, hidróxido de sodio, ter–butóxido de sodio, ter–butóxido de potasio, trietilamina, diisopropilamina, y similares, ácido acético, ácido trifluoroacético, ácido sulfúrico, y similares es en general 1 a 3 moles por 1 mol de compuesto (X).

A continuación se muestra una representación simplificada del Método de reacción 2.

Método de reacción 2





(XIV)

(XV)

(XVI)

(I')

El compuesto (XIII), en donde R^8 a R^{11} son como se definieron con anterioridad y R^{14} es alquilo inferior tales como metilo, etilo, propilo, y similares o aralquilo tales como bencilo, y similares, se puede producir haciendo reaccionar el compuesto (IV), en donde cada símbolo es como se definió con anterioridad, con el compuesto (XI) o el compuesto (XII), en donde cada símbolo es como se definió con anterioridad, en las mismas condiciones que para el método de producción del compuesto (VII).

El compuesto (XIV), en donde cada símbolo es como se definió con anterioridad, se puede producir a partir del compuesto (XIII) de la misma manera que en el método de producción del compuesto (VIII).

El compuesto (XV), en donde cada símbolo es como se definió con anterioridad, se puede producir por medio de una reacción de ciclación del compuesto (XIV).

La reacción se puede llevar a cabo en un solvente inerte, tales como tetrahidrofurano, éter dietílico, 1,2–dimetoxietano, 1,4–dioxano,

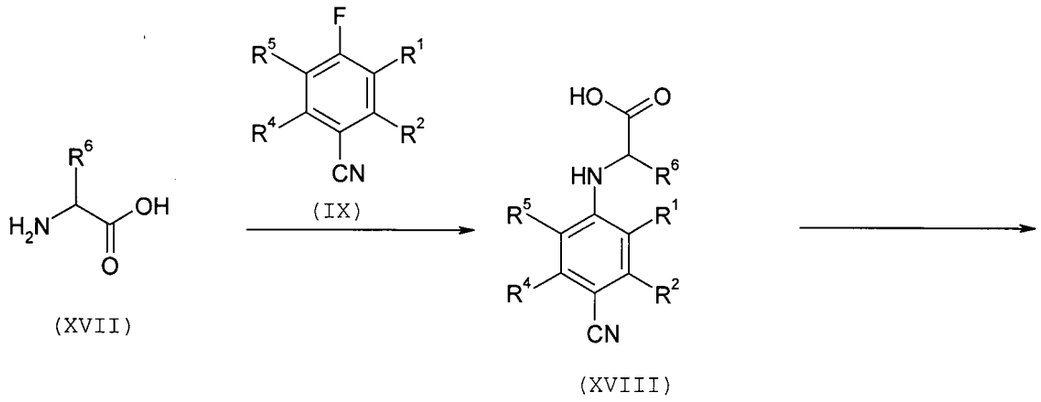
tolueno, benceno, xileno, dimetilformamida, dimetilsulfóxido, y similares y uno de sus solventes mixtos. La reacción se lleva a cabo dentro de un rango de temperatura de aproximadamente 0 °C a 120 °C, con preferencia de 25 °C a 80 °C. Como el tiempo de reacción no está limitado de manera particular, es en general de 0,1 h a 100 h, con preferencia de 0,5 h a 72 h.

La reacción también se puede llevar a cabo lentamente por adición, de ser necesario, de una base tales como carbonato de litio, carbonato de potasio, carbonato de sodio, carbonato de cesio, carbonato hidrogenado de sodio, hidróxido de sodio, ter–butóxido de sodio, ter–butóxido de potasio, trietilamina, diisopropilamina, y similares en 1 a 3 moles por 1 mol de compuesto (XIV).

El compuesto (I') se puede producir haciendo reaccionar el compuesto (XV) con el compuesto (XVI), en donde cada símbolo es como se definió con anterioridad, en las mismas condiciones que para el método de producción del compuesto (I) a partir del compuesto (II) y el compuesto (III).

A continuación se muestra una representación simplificada del Método de reacción 3.

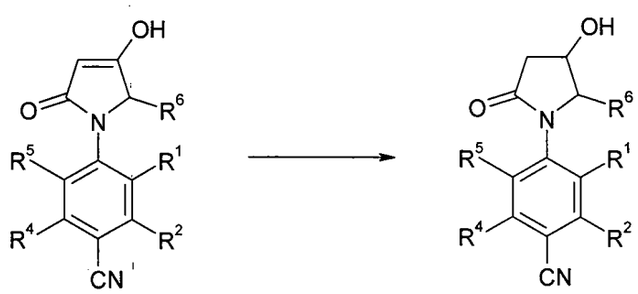
Método de reacción 3



(XVII)

(IX)

(XVIII)



(XIX)

(XX)

El compuesto (XX) en donde cada símbolo es como se definió con anterioridad, que es el compuesto (I'), en donde R^7 a R^{11} son átomos de hidrógeno, se puede producir a partir del aminoácido (XVII), en donde cada símbolo es como se definió con anterioridad, por medio del siguiente método.

El compuesto (XVIII) se puede producir por medio de una reacción de condensación del aminoácido (XVII) y el compuesto (IX), en donde cada símbolo es como se definió con anterioridad.

La reacción se puede llevar a cabo usando el compuesto (IX) en general en 1 – 3 moles por 1 mol de compuesto (XVII) en un solvente inerte, tales como tetrahidrofurano, éter dietílico, 1,2–dimetoxietano, 1,4–dioxano, tolueno, benceno, xileno, dimetilformamida, dimetilsulfóxido, y similares y uno de sus solventes mixtos. La reacción se lleva a cabo dentro de un rango de temperatura de aproximadamente 0 °C a 120 °C, con preferencia de

25 °C a 100 °C. Como el tiempo de reacción no está limitado de manera particular, es en general de 0,1 h a 100 h, con preferencia de 0,5 h a 72 h.

La reacción también se puede llevar a cabo lentamente por adición, de ser necesario, de una base tales como carbonato de litio, carbonato de potasio, carbonato de sodio, carbonato de cesio, carbonato hidrogenado de sodio, hidróxido de sodio, ter–butóxido de sodio, ter–butóxido de potasio, trietilamina, diisopropilamina, y similares en 1 a 3 moles por 1 mol de compuesto (XVII).

El compuesto (XIX) se puede producir haciendo reaccionar el compuesto (XVIII) con N,N'–carbonildiimidazol, y similares para dar un éster activo y haciendo reaccionar el éster con ácido de Meldrum.

Además de N,N'–carbonildiimidazol, se pueden usar diciclohexilcarbodiimida, diisopropilcarbodiimida, carbodiimida acuosa (por ejemplo, clorhidrato de 1–etil–3–(3–dimetilaminopropil)carbodiimida) y cloroformiato de isopropilo. En particular, se prefiere el N,N'–carbonildiimidazol.

De ser necesario, la reacción se puede llevar a cabo suavemente añadiendo, de ser necesario, 1–hidroxibenzotriazol, 4–(N,N–dimetilamino)piridina, y similares.

La reacción se puede llevar a cabo usando un agente de condensación y ácido de Meldrum cada uno en general en 1 – 3 moles por 1 mol de compuesto (XVIII) en un solvente inerte, tales como tetrahidrofurano, éter dietílico, 1,2–dimetoxietano, acetato de etilo, 1,4–dioxano, tolueno, benceno, xileno, dimetilformamida, dimetilsulfóxido y uno de sus solventes mixtos. La reacción se lleva a cabo dentro de un rango de temperatura de aproximadamente 0 °C a 120 °C, con preferencia de 25 °C a 80 °C. Como el tiempo de reacción no está limitado de manera particular, es en general de 0,1 h a 100 h, con preferencia de 0,5 h a 72 h.

El compuesto (XX) se puede producir reduciendo el compuesto

(XIX).

Como agente de reducción, se pueden usar borhidruro de sodio, borhidruro de litio, hidruro de diisobutilaluminio, y similares, dando preferencia al borhidruro de sodio. Usando el agente de reducción en 1 a 5 moles por 1 mol de compuesto (XIX), la reacción se puede llevar a cabo en un solvente inerte, tales como tetrahidrofurano, éter dietílico, 1,2–dimetoxietano, 1,4–dioxano, tolueno, benceno, xileno y uno de sus solventes mixtos. La reacción se lleva a cabo dentro de un rango de temperatura de aproximadamente 0 °C a 100 °C, con preferencia de 0 °C a 50 °C. Como el tiempo de reacción no está limitado de manera particular, es en general de 0,1 h a 100 h, con preferencia de 0,5 h a 72 h.

El compuesto (I) obtenido de esta manera se puede aislar y purificar por un medio de separación conocido *per se*, tales como concentración, concentración a presión reducida, extracción del solvente, conversión de líquidos, salinización, cristalización, recristalización, transferencia de fases, cromatografía, y similares.

Cuando se obtiene el compuesto (I) en una forma libre, se puede convertir en una sal deseada por un método conocido *per se o* una de sus modificaciones; por el contrario, cuando se obtiene el compuesto (I) como una sal, se puede convertir en una forma libre u otra sal deseada por medio de un método conocido *per se o* una de sus modificaciones.

El compuesto (I) puede ser un hidrato o un no hidrato.

Cuando se obtiene el compuesto (I) como una mezcla de formas ópticamente activas, se pueden separar en las formas ópticamente activas objeto por un medio de resolución óptica conocido *per se*.

El compuesto (I) se puede rotular con un isótopo (por ejemplo, ^{2}H, ^{3}H, ^{14}C, etc.), y similares.

Un profármaco del compuesto (I) significa un compuesto que se convierte en el compuesto (I) con una reacción debida a una enzima, un ácido gástrico, etc. en una condición fisiológica en el organismo vivo, es decir, un compuesto que se convierte en el compuesto (I) de la presente invención con oxidación, reducción, hidrólisis, etc. de acuerdo con una enzima; un compuesto que se convierte en el compuesto (I) por hidrólisis, etc. debido a un ácido gástrico, etc. Un profármaco del compuesto (I) puede ser un compuesto obtenido al someter a amino en el compuesto (I) a una reacción de acilación, alquilación o fosforilación (por ejemplo, un compuesto obtenido al someter a amino en compuesto (I) a una eicosanoilación, alanilación, pentilaminocarbonilación, (5–metil–2–oxo–1,3–dioxolen–4–il)metoxicarbonilación, tetrahidrofuranilación, pirrolidilmetilación, pivaloiloximetilación y ter–butilación, etc.); un compuesto obtenido al someter a hidroxi en el compuesto (I) a una acilación, alquilación, fosforilación o boración (por ejemplo, un compuesto obtenido al someter a hidroxi en el compuesto (I) a una acetilación, palmitoilación, propanoilación, pivaloilación, succinilación, fumarilación, alanilación, dimetilaminometilcarbonilación, etc.); un compuesto obtenido al someter un grupo carboxilo en el compuesto (I) a una esterificación o amidación (por ejemplo, un compuesto obtenido al someter un grupo carboxilo en el compuesto (I) a una etilesterificación, fenilesterificación, carboximetilesterificación, dimetilaminometilesterificación, pivaloiloximetilesterificación, etoxicarboniloxietilesterificación, ftalidilesterificación, (5–metil–2–oxo–1,3–dioxolen–4–il)metilesterificación, ciclohexiloxicarboniletilesterificación y metilamidación, etc.), y similares. Cualquiera de estos compuestos se puede producir a partir del compuesto (I) por medio de un método conocido *per se*.

Un profármaco del compuesto (I) también puede ser uno que se convierte en el compuesto (I) en una condición fisiológica, tales

como las descritas en IYAKUHIN no KAIHATSU (Development of Pharmaceuticals), Vol.7, Design of Molecules, p. 163–198, 1990 Publicado por HIROKAWA SHOTEN.

El compuesto (incluso profármaco) de la presente invención puede formar una sal. Una sal del compuesto no está particularmente limitada, siempre que no inhiba la reacción. Por ejemplo, se pueden mencionar una sal con base inorgánica, una sal de amonio, una sal con base orgánica, una sal con ácido inorgánico, una sal con ácido orgánico, una sal con aminoácido, y similares. Los ejemplos preferidos de sales con base inorgánica incluyen sal de metal alcalino tales como sal de sodio, sal de potasio, y similares, sal es metal alcalinotérreo tales como sal de calcio, sal de magnesio, y similares y sal de aluminio, sal de amonio, y similares. Los ejemplos preferidos de sales con base orgánica incluyen sales con trimetilamina, trietilamina, piridina, picolina, 2,6–lutidina, etanolamina, dietanolamina, trietanolamina, ciclohexilamina, diciclohexilamina, N,N'–dibenciletilendiamina, y similares. Los ejemplos preferidos de sales con ácido inorgánico incluyen sales con ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido nítrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, y similares. Los ejemplos preferidos de sales con ácido orgánico incluyen sales con ácido fórmico, ácido acético, ácido trifluoroacético, ácido ftálico, ácido fumárico, ácido oxálico, ácido tartárico, ácido maleico, ácido cítrico, ácido succínico, ácido málico, ácido metansulfónico, ácido bencensulfónico, ácido p–toluensulfónico, y similares. Los ejemplos preferidos de sales con aminoácido básico incluyen sales con arginina, lisina, ornitina, y similares y los ejemplos preferibles de sales con aminoácido ácido incluyen sales con ácido aspártico, ácido glutámico, y similares.

El compuesto (I) de la presente invención o una de sus sales o uno de sus profármacos (de ahora en adelante, abreviado como el compuesto de la presente invención) tiene una acción moduladora

del receptor de andrógeno, en particular una acción agonista del receptor de andrógeno y se puede usar para la prevención o el tratamiento de enfermedades en mamíferos, para las cuales es efectiva una administración de un agonista del receptor de andrógeno. Las enfermedades para los cuales es efectiva la administración de un agonista del receptor de andrógeno incluyen hipogonadismo, osteoporosis, cáncer resistente a hormonas (en particular, cáncer resistente al agonista de la LHRH), trastorno climático (en particular, trastorno climatérico masculino), debilidad, caquexia, anemia, arteriosclerosis, enfermedad de Alzheimer, disfunción eréctil, depresión, enfermedad extenuante, hipertrigliceridemia (hiperlipidemia), y similares. En particular, se usa para la prevención o el tratamiento de hipogonadismo, trastorno climatérico masculino, debilidad, caquexia u osteoporosis.

El compuesto de la presente invención tiene una acción moduladora del receptor de andrógeno selectivos de tejidos y muestra, por ejemplo, una acción antagonista sobre la próstata y una acción agonista sobre los músculos. Específicamente, el compuesto de la presente invención muestra una acción para no aumentar el peso de la próstata en una dosis que aumenta el peso del músculo (por ejemplo, músculo elevador del ano, y similares). Más específicamente, aumenta el peso de la próstata en aproximadamente 10% o menos (con preferencia 0% o menos) en una dosis que aumenta el peso del músculo elevador del ano en aproximadamente el 20% o más (con preferencia aproximadamente el 20% a aproximadamente el 50%). Aquí, haciendo referencia a un "aumento del peso de la próstata en el 0% o menos", un aumento del 0% significa que el peso de la próstata no aumenta o reduce y un aumento de menos del 0% significa que el peso de la próstata se reduce en su valor absoluto. Conforme a ello, el compuesto de la presente invención se puede usar como un agente farmacéutico

mostrado más abajo.

(1) Un supresor de debilidad.

(2) Un mejorador de la fuerza muscular o un agente que aumenta los músculos (que provee efectos en pacientes mayores no postrados, menor período de rehabilitación, y similares).

(3) Un supresor de caquexia causada, por ejemplo, por SIDA, cáncer, y similares.

(4) Un supresor de la disminución del peso corporal.

(5) Un agente para la prevención o el tratamiento de hipertrofia de próstata (que reduce el peso de la próstata).

(6) Un agente para la prevención o el tratamiento de amiotrofia.

(7) Un agente para reducir el peso de la próstata.

(8) Un agente para la prevención o el tratamiento de la pérdida muscular causada por enfermedades (por ejemplo, distrofia muscular, atrofia muscular, atrofia muscular bulbo–espinal con unión a X (SBMA), caquexia, malnutrición, enfermedad de Hansen, diabetes, enfermedad renal, EPOC (enfermedad pulmonar obstructiva crónica), cáncer, insuficiencia renal terminal, sarcopenia (pérdida muscular debida a la edad avanzada), enfisema, osteomalacia, infección por HIV, sida, cardiomiopatía, y similares).

(9) Un supresor de la pérdida de fuerza muscular en mujeres posmenopáusicas.

(10) Un supresor de la densidad mineral ósea en mujeres posmenopáusicas.

(11) Un supresor de accesos de calor (por ejemplo, rubor, transpiración, y similares) en mujeres posmenopáusicas.

(12) Un agente para reducir los efectos secundarios de los moduladores de la LHRH tales como agonistas de la LHRH (leuprorelina, goserelina, buserelina, nafarelina, triptorelina, gonadorelina, y similares), antagonistas de la LHRH (ganirelix, cetrorelix, antarelix, abarelix, sufugolix, y similares) y otros.

(13) Un supresor de la pérdida de fuerza muscular después de la administración de un agente farmacéutico tales como un modulador de la LHRH, y similares.

(14) Un supresor de la densidad mineral ósea reducida después de la administración de un agente farmacéutico tales como un modulador de la LHRH, y similares.

(15) Un supresor de accesos de calor (por ejemplo, rubor, transpiración, y similares) después de la administración de un agente farmacéutico tales como un modulador de la LHRH, y similares.

Además, el compuesto de la presente invención muestra un efecto como un supresor de la debilidad, un mejorador de la fuerza muscular o un agente mejorador de músculos cuando se usa como un agente para la prevención o el tratamiento de hipertrofia de próstata o un agente para reducir el peso de la próstata. Conforme a ello, se espera que acorte el período de rehabilitación sin dejar postrados a pacientes de edad avanzada. Sin el efecto secundario de aumentar el peso de la próstata, se espera proveer un agente para la prevención o el tratamiento de cáncer de próstata en pacientes con alta posibilidad de cáncer de próstata. Más aún, sin el efecto secundario de virilización, se puede aplicar a mujeres y se espera proveer un supresor de pérdida de fuerza muscular o pérdida de densidad mineral ósea en mujeres posmenopáusicas o un supresor de accesos de calor (rubor, transpiración, etc.) en mujeres posmenopáusicas. Por otra parte, también se espera como un agente para reducir los efectos secundarios de los agonistas de la LHRH (leuprorelina, goserelina, buserelina, nafarelina, triptorelina, gonadorelina, y similares) y los antagonistas de la LHRH (ganirelix, cetrorelix, antarelix, abarelix, sufugolix, y similares), un supresor de pérdida de la fuerza muscular y la pérdida de densidad mineral ósea después de la administración de estos agentes farmacéuticos o un supresor de accesos de calor (rubor, transpiración, y similares)

después de la administración de estos agentes farmacéuticos.

El compuesto de la presente invención logra una inhibición del crecimiento y la muerte celular al colocar, contrariamente, una estimulación excesiva en el cáncer que ha adquirido resistencia al tratamiento hormonal al ser hipersensible al andrógeno. Así, se puede usar como un agente para la prevención o el tratamiento de diversos cánceres, tales como cáncer de mama, cáncer de próstata, cáncer de endometrio, cáncer de cuello uterino, cáncer de ovario, cáncer de la vejiga urinaria, cáncer de tiroides, cáncer de huesos y cáncer de pene, que adquirieron resistencia hormonal y se puede usar en particular como un agente para la prevención o el tratamiento de cáncer de próstata.

Como cáncer resistente a hormonas se puede mencionar, por ejemplo, cáncer resistente a derivados de la LHRH, con preferencia cáncer resistente al agonista de la LHRH.

El compuesto de la presente invención muestra una baja toxicidad y se puede usar como un agente farmacéutico como tal o como una composición farmacéutica en mezcla con un portador farmacéuticamente aceptable comúnmente conocido, etc. en mamíferos (por ejemplo, humanos, caballos, bovinos, perros, gatos, ratas, ratones, conejos, cerdos, monos, y similares).

Además del compuesto de la presente invención, dicha composición farmacéutica puede contener otros ingredientes activos, por ejemplo, los siguientes agentes terapéuticos hormonales, agente anticáncer (por ejemplo, agentes quimioterapéuticos, agentes inmunoterapéuticos o agentes farmacéuticos que inhiben la acción de factores de crecimiento celular o receptores del factor de crecimiento celular), antieméticos, y similares.

Como un agente farmacéutico para mamíferos tales como humanos, el compuesto de la presente invención se puede administrar por vía oral en forma, por ejemplo, de comprimidos,

cápsulas (incluyendo cápsulas blandas y microcápsulas), polvos, gránulos, y similares o por vía parenteral en forma de inyecciones, supositorios, pellets, y similares. Los ejemplos del "ruta de administración parenteral" incluyen administración intravenosa, intramuscular, subcutánea, intratisular, intranasal, intradérmica, instilación, intracerebral, intrarrectal, intravaginal, intraperitoneal, intratumoral, yuxtaposición de tumor y administración directamente sobre la lesión.

La dosis del compuesto de la presente invención varía según la vía de administración, los síntomas, etc. Por ejemplo, cuando se administra por vía oral como un agente anticáncer a un paciente (peso corporal 40 a 80 kg) con cáncer de mama o cáncer de próstata, su dosis es, por ejemplo, de 0,1 a 200 mg/kg de peso corporal por día, con preferencia de 1 a 100 mg/kg de peso corporal por día y con mayor preferencia de 1 a 50 mg/kg de peso corporal por día. Esta cantidad se puede administrar una vez o en 2 a 3 porciones divididas por día.

El compuesto de la presente invención se puede administrar por vía oral o parenteral en forma de una forma de dosificación sólida tales como comprimido, cápsula, gránulo, polvo, y similares; o una preparación líquida tales como jarabe, inyección, y similares, mezclándolo con un portador farmacéuticamente aceptable.

Como un portador farmacéuticamente aceptable, se pueden usar diversas sustancias portadoras orgánicas o inorgánicas utilizadas convencionalmente como materiales de preparación. Por ejemplo, se pueden mencionar excipiente, lubricante, aglutinante y desintegrante para preparaciones sólidas, solvente, agentes de solubilización, agente de suspensión, agente de isotonicidad, tampón y agente suavizante para preparaciones líquidas, y similares. De ser necesario, se pueden usar aditivos de preparación tales como conservantes, antioxidantes, colorantes, agentes endulzantes, y

similares.

Los ejemplos preferidos del excipiente incluyen lactosa, sacarosa, D–manitol, almidón, celulosa cristalina, ácido silícico anhidro ligero, y similares.

Los ejemplos preferidos del lubricante incluyen estearato de magnesio, estearato de calcio, talco, sílice coloidal, y similares.

Los ejemplos preferidos del aglutinante incluyen celulosa cristalina, sacarosa, D–manitol, dextrina, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, polivinilpirrolidona, y similares.

Los ejemplos preferidos del desintegrante incluyen almidón, carboximetilcelulosa, carboximetilcelulosa cálcica, croscarmelosa sódica, carboximetilalmidón sódico, y similares.

Los ejemplos preferidos del solvente incluyen agua para inyección, alcohol, propilenglicol, macrogol, aceite de sésamo, aceite de maíz, y similares.

Los ejemplos preferidos del agente de solubilización incluyen polietilenglicol, propilenglicol, D–manitol, benzoato de bencilo, etanol, trisaminometano, colesterol, trietanolamina, carbonato de sodio, citrato de sodio, y similares.

Los ejemplos preferidos del agente de suspensión incluyen tensoactivos tales como estearíltrietanolamina, laurilsulfato sódico, aminopropionato de laurilo, lecitina, cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio, monoestearato de glicerilo, y similares; polímeros hidrofílicos tales como alcohol polivinílico, polivinilpirrolidona, carboximetilcelulosa sódica, metilcelulosa, hidroximetilcelulosa, hidroxietilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, y similares; y otros.

Los ejemplos preferidos del agente de isotonicidad incluyen cloruro de sodio, glicerol, D–manitol, y similares.

Los ejemplos preferidos del tampón incluyen tampones tales como fosfato, acetato, carbonato, citrato, y similares; y otros.

Los ejemplos preferidos del agente suavizante incluyen alcohol

bencílico, y similares.

Los ejemplos preferidos del conservante incluyen paraoxibenzoatos, clorobutanol, alcohol bencílico, alcohol fenetílico, ácido deshidroacético, ácido sórbico, y similares.

Los ejemplos preferidos del antioxidante incluyen sulfito, ácido ascórbico, y similares.

Una composición farmacéutica se puede producir de acuerdo con un método convencional añadiendo el compuesto de la presente invención en general en una proporción del 0,1 al 95% (p/p) respecto de la cantidad total de la preparación, a pesar de que puede cambiar según la forma de dosificación, el método de administración, el portador, y similares.

Además, una combinación de (1) la administración de una cantidad efectiva de un compuesto de la presente invención y (2) 1 a 3 seleccionados del grupo que consiste en (i) administración de una cantidad efectiva de otros agentes anticáncer, (ii) administración de una cantidad efectiva de otros agentes terapéuticos hormonales y (iii) terapia no farmacológica pueden prevenir y/o tratar cáncer más efectivamente. Como la terapia no farmacológica, se usan, por ejemplo, cirugía, terapia química hipertensiva usando angiotensina II, y similares, radioterapia, terapia génica, termoterapia, crioterapia, cauterización con láser, y similares y se pueden combinar dos o más de ellos.

Por ejemplo, el compuesto de la presente invención se puede usar en combinación con otros agentes terapéuticos, otros agentes anticáncer (por ejemplo, agente quimioterapéutico, agente inmunoterapéutico (incluyendo vacuna), anticuerpo, fármacos para terapia génica, agentes farmacéuticos que inhiben la acción de factores de crecimiento celular y sus receptores, agentes farmacéuticos que inhiben angiogénesis), antieméticos, y similares (de ahora en más en la presente, abreviado como fármaco

concomitante).

Mientas que el compuesto de la presente invención exhibe una excelente acción anticáncer incluso cuando se usa como un simple agente, su efecto se puede mejorar aún más o el QOL de pacientes se puede mejorar usándolo en combinación con uno o varios de los fármacos concomitantes mencionados con anterioridad (coadministración de múltiples agentes).

Los ejemplos de los "agentes terapéuticos hormonales" incluyen fosfestrol, dietilestilbestrol, clorotrianiseno, acetato de medroxiprogesterona, acetato de megestrol, acetato de clormadinona, acetato de ciproterona, danazol, dienogest, asoprisnilo, alilestrenol, gestrinona, nomegestrol, tadenano, mepartricina, raloxifeno, ormeloxifeno, levormeloxifeno, antiestrógeno (por ejemplo, citrato de tamoxifeno, citrato de toremifeno, etc.), regulador hacia debajo de ER (por ejemplo, fulvestrant, etc.), gonadotropina posmenopáusica humana, folitropina, preparación en píldora, mepitiostano, testrolactona, aminoglutetimida, derivado de la LH–RH (por ejemplo, agonista de la LH–RH (por ejemplo, acetato de goserelina, buserelina, leuprorelina, etc.), antagonista de la LH–RH), droloxifeno, epitiostanol, sulfonato de etinilestradiol, inhibidor de aromatasa (por ejemplo, clorhidrato de fadrozol, anastrozol, letrozol, exemestano, vorozol, formestano, etc.), antiandrógenos (por ejemplo, flutamida, bicalutamida, nilutamida, etc.), inhibidor de la 5α–reductasa (por ejemplo, finasteride, dutasteride, epristeride, etc.), corticosteroide (por ejemplo, dexametasona, prednisolona, betametasona, triamcinolona etc.), inhibidor de la síntesis de andrógenos (por ejemplo, abiraterona, etc.), retinoide y fármacos que retardan el metabolismo de los retinoides (por ejemplo, liároslo, etc.), y similares. Se prefiere el derivado de la LH–RH.

Los ejemplos de los "agentes quimioterapéuticos" incluyen agente alquilante, antagonista metabólico, antibióticos antitumorales,

agente antitumoral derivado de plantas, otros agentes quimioterapéuticos, y similares.

Los ejemplos del "agente alquilante" incluyen mostaza nitrogenada, clorhidrato de N–óxido de mostaza nitrogenada, clorambucilo, ciclofosfamida, ifosfamida, tiotepa, carbocuona, tosilato de improsulfano, busulfano, clorhidrato de nimustina, mitobronitol, melfalano, dacarbazina, ranimustina, fosfato de estramustina sódica, trietilenmelamina, carmustina, lomustina, estreptozocina, pipobromano, etoglucida, carboplatino, cisplatino, miboplatino, nedaplatino, oxaliplatino, altretamina, ambamustina, clorhidrato de dibrospidio, fotemustina, prednimustina, pumitepa, ribomustina, temozolomida, treosulfano, trofosfamida, estimalamer de zinostatina, carbocuona, adozelesina, cistemustina, bizelesina y similares.

Los ejemplos del "antimetabolitos" incluyen mercaptopurina, ribósido de 6–mercaptopurina, tioinosina, metotrexato, enocitabina, citarabina, ocfosfato de citarabina, clorhidrato de ancitabina, fármacos de 5–FU (por ejemplo, fluorouracilo, tegafur, UFT, doxifluridina, carmofur, galocitabina, emitefur, etc.), aminopterina, leucovorina cálcica, tabloide, butocina, folinato cálcico, levofolinato cálcico, cladribina, emitefur, fludarabina, gemcitabina, hidroxicarbamida, pentostatina, piritrexima, idoxuridina, mitoguazona, tiazofrina, ambamustina, y similares.

Los ejemplos del "antibióticos antitumorales" incluyen actinomicina D, actinomicina C, mitomicina C, cromomicina A3, clorhidrato de bleomicina, sulfato de bleomicina, sulfato de peplomicina, clorhidrato de daunorrubicina, clorhidrato de doxorrubicina, clorhidrato de aclarrubicina, clorhidrato de pirarrubicina, clorhidrato de epirrubicina, neocarzinostatina, mitramicina, sarcomicina, carzinofilina, mitotano, clorhidrato de zorrubicina, clorhidrato de mitoxantrona, clorhidrato de idarrubicina,

y similares.

Los ejemplos del "agente antitumoral derivado de plantas" incluyen etopósido, fosfato de etopósido, sulfato de vinblastina, sulfato de vincristina, sulfato de vindesina, tenipósido, paclitaxel, docetaxel, DJ–927, vinorelbina, irinotecano, topotecano, y similares.

Los ejemplos de los "otros agentes quimioterapéuticos" incluyen sobuzoxano, y similares.

Los ejemplos del "agente inmunoterapéutico (BRM)" incluyen picibanilo, crestina, esquizofilano, lentinano, ubenimex, interferón, interleuquina, factor de estimulación de colonias de macrófagos, factor de estimulación de colonias de granulocitos, eritropoyetina, linfotoxina, Corynebacterium parvum, levamisol, polisacárido K, procodazol, y similares. Como la vacuna, se usan vacuna BCG, PROVENGE, Onyvax–P, PROSTVAC–VF, GVAX, DCVax–Prostate, SAPOIMMUNE, VPM–4–001, y similares.

Los ejemplos del "anticuerpo" incluyen un anticuerpo de EpiCAM, un anticuerpo de PSCA y un anticuerpo de PSMA.

El "factor de crecimiento" en dichos "agentes farmacéuticos que inhiben la acción de los factores de crecimiento celular o los receptores del factor de crecimiento celular" puede ser cualquiera siempre que promueva la proliferación celular, que es normalmente un péptido que tiene un peso molecular de no más de 20.000 que es capaz de exhibir su actividad en bajas concentraciones al unirse a un receptor. Sus ejemplos incluyen (1) EGF (factor de crecimiento epidérmico) o sustancias que poseen sustancialmente su misma actividad [por ejemplo, EGF, herregulina TGF–α, HB–EGF, etc.], (2) insulina o sustancias que poseen sustancialmente su misma actividad [por ejemplo, insulina, IGF (factor de crecimiento símil insulina)–1, IGF–2, y similares], (3) FGF (factor de crecimiento de fibroblastos) o sustancias que poseen sustancialmente su misma actividad [por ejemplo, FGF ácido, FGF básico, KGF (factor de

crecimiento de queratinocitos), FGF–10, y similares], (4) otros factores de crecimiento celular [por ejemplo, CSF (factor estimulante de colonias), EPO (eritropoyetina), IL–2 (interleuquina–2), NGF (factor de crecimiento nervioso), PDGF (factor de crecimiento derivado de plaquetas), TGFβ (factor de crecimiento de transformación β), HGF (factor de crecimiento de hepatocitos), VEGF (factor de crecimiento endotelial vascular), y similares], y otros.

Los ejemplos del "receptores del factor de crecimiento" incluyen cualquier receptor capaz de unirse a los factores de crecimiento antes mencionados, tales como receptor de EGF, HER2, HER3 y HER4 que pertenecen a la misma familia que el receptor de EGF, receptor insulínico, receptor de IGF, receptor de FGF–1, receptor de FGF–2, y similares.

Los ejemplos de los "agentes farmacéuticos que inhiben la acción de los factores de crecimiento celular y sus receptores" incluyen trastuzumab (Herceptin (marca registrada); anticuerpo de HER2), mesilato de imatinib, ZD1839, cetuximab, gefitinib, erlotinib, y similares.

Los ejemplos de los "agentes farmacéuticos que inhiben angiogénesis" incluyen anticuerpos de VEGF (por ejemplo, bevacizumab), anticuerpos de receptores de VEGF, inhibidores de la quinasa del receptor VEGF (por ejemplo, SU11248, etc.), inhibidores de quinasa del receptor de PDGF, inhibidores de quinasa Tie2, talidomida, y similares.

Además de los fármacos antes mencionados, también se pueden usar L–asparaginasa, aceglatona, clorhidrato de procarbazina, sal de complejo de protoporfirina–cobalto, hematoporfirina mercúrica–sodio, inductor de la diferenciación (por ejemplo, retinoide, vitamina D, etc.), α–bloqueante (por ejemplo, clorhidrato de tamsulosina, naftopidilo, urapidilo, alfuzosina, terazosina, prazosina, silodosinam etc.), inhibidor de serina/treonina

quinasa, antagonista del receptor de endotelina (por ejemplo, atrasentano, etc.), inhibidor de proteasoma (por ejemplo, bortezomib, etc.), inhibidor de Hsp90 (por ejemplo, 17–AAG etc.), espironolactona, minoxidilo, 11α—hidroxiprogesterona y agente inhibidor de resorción ósea - supresor de metástasis (por ejemplo, ácido zoledrónico, ácido alendrónico, ácido pamidrónico, ácido etidrónico, ácido ibandrónico, ácido clodrónico).

Como el "antiemético", se pueden usar mejoradores de la motilidad gástrica tales como antagonistas de 5–HT_3 tales como ondansetrona, clorhidrato de tropisetrona, azasetrona, ramosetrona, granisetrona, mesilato de dolasetrona, palonosetrona, y similares, antagonistas de 5–HT_4 tales como domperidona, mosapride, metoclopramide, y similares y otros; reguladores de la motilidad del tracto gastrointestinal tales como trimebutina, y similares; agentes farmacéuticos de fenotiazina tales como maleato de procloroperazina, prometazina, tietilperazina, y similares; tranquilizantes tales como haloperidol, fenolftalinato de cloropromazina, diazepam, droperidol, y similares; esteroides tales como dexametasona, prednisolona, betametasona, triamcinolona, y similares; así como ácido dimetilhidrina, difenhidramina, hioscina, bromhidrato de hioscina, tetrabenazina, y similares.

Como el derivado de la LH–RH antes mencionado, también se usan un derivado de la LH–RH o una de sus sales efectivas para la enfermedad dependiente de hormonas, en particular enfermedad dependiente de la hormona sexual tales como cáncer dependiente de la hormona sexual (por ejemplo, cáncer de próstata, cáncer uterino, cáncer de mama, tumor de la glándula pituitaria, cáncer de hígado, y similares), hipertrofia de próstata, endometriosis, histeromioma, pubertad precoz, dismenorrea, amenorrea, síndrome premenstrual, síndrome de ovario poliquístico, y similares y anticoncepción (o infertilidad cuando se usa el efecto rebote después del cese del

fármaco). Además, también se usan un derivado de la LH–RH o una de sus sales efectivas para tumores benignos o malignos, que es independiente de la hormona sexual, pero sensible a la LH–RH, y similares.

Los ejemplos específicos del derivado de la LH–RH o una de sus sales incluyen péptidos descritos en Treatment with GnRH analogs: Controversies and perspectives (The Partenon Publishing Group Ltd., publicado en 1996), documentos JP–A–3–503165, JP–A–3–101695, JP–A–7–97334, JP–A–8–259460, y similares.

Los ejemplos del derivado de la LH–RH incluyen un agonista de la LH–RH y un antagonista de la LH–RH. Como el antagonista de la LH–RH, se usa, por ejemplo, un péptido fisiológicamente activo representado por la fórmula

X–D2Nal–D4ClPhe–D3Pal–Ser–A–B–Leu–C–Pro–DAlaNH$_2$

en donde X es N(4H$_2$–furoil)Gly o NAc, A es un residuo seleccionado de NMeTyr, Tyr, Aph(Atz) y NMeAph(Atz), B es un residuo seleccionado de DLys(Nic), DCit, DLys(AzaglyNic), DLys(AzaglyFur), DhArg(Et$_2$), DAph(Atz) y DhCi y C es Lys(Nisp), Arg o hArg(Et$_2$) o una de sus sales, y similares, con preferencia particular abarelix, ganirelix, cetrorelix, 5–(N–bencil–N–metilaminometil)–1–(2,6–difluorobencil)–6–[4–(3–metoxiureido)fenil]–3–feniltieno[2,3–d]pirimidin–2,4(1H,3H)–diona, 5–(N–bencil–N–metilaminometil)–1–(2,6–difluorobencil)–6–[4–(3–etilureído)fenil]–3–feniltieno[2,3–d]pirimidin–2,4(1H,3H)–diona, clorhidrato de 5–(N–bencil–N–metilaminometil)–1–(2,6–difluorobencil)–6–[4–(3–etilureído)fenil]–3–feniltieno[2,3–d]pirimidin–2,4(1H,3H)–diona, y similares.

Como agonistas de la LH–RH, se usan, por ejemplo, péptidos fisiológicamente activos representados por la fórmula

5–oxo–Pro–His–Trp–Ser–Tyr–Y–Leu–Arg–Pro–Z

en donde Y es un residuo seleccionado de DLeu, DAla, DTrp,

DSer(tBu), D2Nal y DHis(ImBzl) y Z es NH–C_2H_5 o Gly–NH_2 o una de sus sales, y similares. Por ejemplo, son acetato de goserelina, buserelina, y similares. En particular, se prefiere el péptido en donde Y es DLeu y Z es NH–C_2H_5 (es decir, péptido A representado por 5–oxo–Pro–His–Trp–Ser–Tyr–DLeu–Leu–Arg–Pro–NH–C_2H_5; leuprorelina) o una de sus sales (por ejemplo, acetato).

Cuando se describe el aminoácido, el péptido, el grupo protector y similares del polipéptido descrito en la presente memoria descriptiva, se indican usando abreviaturas que se basan en las abreviaturas de acuerdo con la Comisión de Nomenclatura Bioquímica de IUPAC–IUB o con abreviaturas convencionales en el campo. Cuando está presente un isómero óptico debido al aminoácido, significa una forma L, salvo que se especifique otra cosa.

Los ejemplos de las abreviaturas son las siguientes.

Abu : ácido aminobutírico

Aibu : ácido 2–aminobutírico

Ala : alanina

Arg : arginina

Gli : glicina

His : histidina

Ile : isoleucina

Leu : leucina

Met : metionina

Nle : norleucina

Nval : norvalina

Phe : fenilalanina

Phg : fenilglicina

Pro : prolina

(Pyr)Glu : ácido piroglutámico

Ser : serina

Thr : treonina

Trp : triptófano

Tir : tirosina

Val : valina

D2Nal: residuo de D–3–(2–naftil)alanina

DSer(tBu): O–ter–butil–D–serina

DHis(ImBzl): N^{im}–bencil–D–histidina

PAM : fenilacetamidometilo

Boc : t–butiloxicarbonilo

Fmoc : 9–fluorenilmetiloxicarbonilo

Cl–Z : 2–cloro–benciloxicarbonilo

Br–Z : 2–bromo–benciloxicarbonilo

Bzl : bencilo

Cl_2–Bzl: 2,6–diclorobencilo

Tos : p–toluensulfonilo

HONb : N–hidroxi–5–norbornano–2,3–dicarboxiimida

HOBt : 1–hidroxibenzotriazol

HOOBt: 3–hidroxi–3,4–dihidro–4–oxo–1,2,3–benzotriazina

MeBzl: 4–metilbencilo

Bom : benciloximetilo

Bum : t–butoximetilo

Trt : tritilo

DNP : dinitrofenilo

DCC : N,N'–diciclohexilcarbodiimida

De los fármacos antes mencionados, los fármacos concomitantes preferidos son un agonista de la LH–RH (por ejemplo, acetato de goserelina, buserelina, leuprorelina, etc.), y similares.

Cuando se usa el compuesto de la presente invención y un fármaco concomitante en combinación, no hay restricciones sobre el momento de la administración del compuesto de la presente invención y el fármaco concomitante, y el compuesto de la presente

invención, o el fármaco concomitante se pueden administrar simultáneamente a un sujeto de administración, o se pueden administrar en distintos momentos. La forma de dosificación del fármaco concomitante se puede determinar de acuerdo con la cantidad de administración usada clínicamente, y se puede seleccionar adecuadamente según el sujeto de administración, la vía de administración, la enfermedad, la combinación y similares.

El modo de administración del compuesto de la presente invención y el fármaco concomitante no está limitado particularmente, y el compuesto de la presente invención y el fármaco concomitante sólo requieren combinarse en la administración. Los ejemplos de este modo de administración incluyen los siguientes:

(1) administración de una preparación individual obtenida por procesamiento simultáneo del compuesto de la presente invención y el fármaco concomitante, (2) administración simultánea de dos tipos de preparaciones del compuesto de la presente invención y el fármaco concomitante, que se produjeron por separado, por la misma vía de administración, (3) administración de dos tipos de preparaciones del compuesto de la presente invención y el fármaco concomitante, que se produjeron por separado, por la misma vía de administración de una manera gradual, (4) administración simultánea de dos tipos de preparaciones del compuesto de la presente invención y el fármaco concomitante, que se produjeron por separado, por diferentes vías de administración, (5) administración de dos tipos de preparaciones del compuesto de la presente invención y el fármaco concomitante, que se produjeron por separado, por diferentes vías de administración de una manera gradual (por ejemplo, administración en el orden del compuesto de la presente invención y el fármaco concomitante o en el orden inverso), y similares. En lo que sigue, estos modos de administración se abrevian colectivamente como el fármaco concomitante de la

presente invención.

El fármaco concomitante de la presente invención tiene baja toxicidad, y por ejemplo, el compuesto de la presente invención y/o el antes mencionado fármaco concomitante se pueden mezclar, de acuerdo con un método conocido *per se*, con un portador farmacológicamente aceptable para dar composiciones farmacéuticas, tales como comprimidos (incluso comprimido recubierto de azúcar, comprimido recubierto de película), polvos, gránulos, cápsulas (incluso cápsulas blandas), soluciones, inyecciones, supositorios, agentes de liberación sostenida y similares, que se pueden administrar con seguridad por vía oral o parenteral (por ejemplo, local, recto, vena, y similares). Se puede administrar una inyección por administración intravenosa, intramuscular, subcutánea, en el órgano, intranasal, intradérmica, por instilación, intracerebral, intrarrectal, vaginal e intraperitoneal, intratumoral, próximo al tumor, y similares o directamente en la lesión.

Como portadores farmacológicamente aceptables que se pueden usar para producir el fármaco concomitante de la presente invención, se pueden usar aquellos similares a los portadores farmacológicamente aceptables antes mencionados que se pueden usar para la composición farmacéutica de la presente invención.

La proporción de composición del compuesto de la presente invención al fármaco concomitante en el agente de combinación de la presente invención se puede seleccionar apropiadamente según el sujeto de administración, la vía de administración, las enfermedades, y similares.

Por ejemplo, el contenido del compuesto de la presente invención en el agente de combinación de la presente invención difiere según la forma de una preparación y usualmente es de aproximadamente 0,01 a 100% en peso, con preferencia de aproximadamente 0,1 a 50% en peso, con mayor preferencia de

aproximadamente 0,5 a 20% en peso, en base a toda la preparación.

El contenido del fármaco concomitante en el agente de combinación de la presente invención difiere según la forma de una preparación y usualmente es de aproximadamente 0,01 a 100% en peso, con preferencia de aproximadamente 0,1 a 50% en peso, con mayor preferencia de aproximadamente 0,5 a 20% en peso, en base a toda la preparación.

El contenido de aditivos tales como portadores, y similares en el agente de combinación de la presente invención difiere según la forma de una preparación y, de modo usual, es de aproximadamente 1 a 99,99% en peso, con preferencia de aproximadamente 10 a 90% en peso, en base a toda la preparación.

En el caso de que el compuesto de la presente invención y el fármaco concomitante se preparen por separado, respectivamente, se pueden adoptar los mismos contenidos.

Estas preparaciones se pueden producir por medio de un método conocido *per se* utilizado usualmente en un proceso de preparación.

Por ejemplo, el compuesto de la presente invención y el fármaco concomitante se pueden preparar en una inyección acuosa junto con un agente de dispersión (por ejemplo, Tween 80 (fabricado por Atlas Powder, EE. UU.), HCO 60 (fabricado por Nikko Chemicals), polietilenglicol, carboximetilcelulosa, alginato de sodio, hidroxipropilmetilcelulosa, dextrina, y similares), un estabilizante (por ejemplo, ácido ascórbico, pirosulfito de sodio, y similares), un tensoactivo (por ejemplo, Polisorbato 80, macrogol, y similares), un solubilizante (por ejemplo, glicerina, etanol, y similares), un tampón (por ejemplo, ácido fosfórico y su sal de metal alcalino, ácido cítrico y su sal de metal alcalino, y similares), un agente isotónico (por ejemplo, cloruro de sodio, cloruro de potasio, manitol, sorbitol, glucosa, y similares), un regulador del pH (por ejemplo, ácido

clorhídrico, hidróxido de sodio, y similares), un conservante (por ejemplo, parahidroxibenzoato de etilo, ácido benzoico, metilparabeno, propilparabeno, alcohol bencílico, y similares), un agente de disolución (por ejemplo, glicerina concentrada, meglumina, y similares), un agente de solubilización (por ejemplo, propilenglicol, sacarosa, y similares), un agente suavizante (por ejemplo, glucosa, alcohol bencílico, y similares), y similares o se pueden disolver, suspender o emulsionar en un aceite vegetal tales como aceite de oliva, aceite de sésamo, aceite de semillas de algodón, aceite de maíz, y similares o un agente de solubilización tales como propilenglicol y se preparan en una inyección oleosa, obteniendo así una inyección.

Para producir una preparación para administración oral, se pueden añadir un excipiente (por ejemplo, lactosa, sacarosa, almidón, y similares), un agente desintegrante (por ejemplo, almidón, carbonato de calcio, y similares), un aglutinante (por ejemplo, almidón, goma arábiga, carboximetilcelulosa, polivinilpirrolidona, hidroxipropilcelulosa, y similares), un lubricante (por ejemplo, talco, estearato de magnesio, polietilenglicol 6000, y similares), y similares, por ejemplo, al compuesto de la presente invención o el fármaco concomitante, de acuerdo con un método conocido *per se* y la mezcla se puede moldear por compresión, luego, si se desea, el producto moldeado se puede revestir por medio de un método conocido *per se* a los fines de enmascarar el sabor, propiedad entérica o durabilidad, para obtener una preparación para administración oral. Como el agente de recubrimiento, se pueden usar, por ejemplo, hidroxipropilmetilcelulosa, etilcelulosa, hidroximetilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, polioxietilenglicol, Tween 80, Pluronic F68, acetato–ftalato de celulosa, ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa, acetato–succinato de hidroximetilcelulosa, Eudragit (copolímero de ácido metacrílico–ácido acrílico, fabricado por Rohm, Alemania),

pigmento (por ejemplo, óxido de hierro rojo, dióxido de titanio, etc.), y similares. La preparación para administración oral puede ser cualquiera de una preparación de liberación inmediata y una preparación de liberación sostenida.

Por ejemplo, para dar un supositorio, el compuesto de la presente invención y el fármaco concomitante se pueden preparar en un sólido oleoso o acuoso, supositorio semisólido o líquido de acuerdo con un método conocido *per se*. Como el sustrato oleoso por usar para la composición antes mencionada, se enumeran, por ejemplo, glicéridos de ácidos grasos superiores [por ejemplo, manteca de cacao, Witepsols (fabricado por Dynamit Nobel, Alemania), etc.], ácido graso de cadena media [por ejemplo, Miglyols (fabricado por Dynamit Nobel, Alemania), etc.] o aceites vegetales (por ejemplo, aceite de sésamo, aceite de poroto de soja, aceite de semillas de algodón, y similares), y otros. Además, como el sustrato acuoso, se enumeran, por ejemplo, polietilenglicoles, propilenglicol y como el sustrato en gel acuoso, se enumeran, por ejemplo, gomas naturales, derivados celulósicos, polímeros vinílicos, polímeros de ácido acrílico, y similares.

Como la preparación de liberación sostenida antes mencionada, se usan microcápsulas de liberación sostenida, y similares.

La microcápsula de liberación sostenida se puede producir por medio de un método conocido *per se* y, por ejemplo, una preparación de liberación sostenida tales como la mostrada en el siguiente punto [2] se forma preferentemente y se administra.

El compuesto de la presente invención con preferencia se moldea en una preparación de administración oral tales como una preparación sólida (por ejemplo, polvo, gránulo, comprimido, cápsula), y similares o se moldea en una preparación de administración rectal tal como un supositorio. En particular, se prefiere una preparación de administración oral.

El fármaco concomitante se puede preparar en la forma farmacológica antes mencionada según el tipo de fármaco.

[1] Una inyección del compuesto de la presente invención o el fármaco concomitante y su preparación, [2] una preparación de liberación sostenida o una preparación de liberación inmediata del compuesto de la presente invención o el fármaco concomitante y su preparación, [3] un agente sublingual, bucal o intraoral de rápida desintegración del compuesto de la presente invención o el fármaco concomitante y su preparación se describirán específicamente a continuación.

[1] Inyección y su preparación

Se prefiere una inyección preparada por disolución del compuesto de la presente invención o el fármaco concomitante en agua. Esta inyección puede contener un benzoato y/o salicilato.

La inyección se obtiene al disolver el compuesto de la presente invención o el fármaco concomitante, y si se desea, un benzoato y/o salicilato en agua.

Como las sales de ácido benzoico y ácido salicílico antes citadas se pueden mencionar, por ejemplo, sales de metales alcalino tal como sodio, potasio y similares, sales metales alcalinotérreos tales como calcio, magnesio y similares, sales de amonio, sales de meglumina, sales con ácidos orgánicos tales como trometamol, y similares, etc.

La concentración del compuesto de la presente invención o el fármaco concomitante en una inyección es de 0,5 a 50 p/v%, de preferencia de aproximadamente 3 a 20 p/v%. La concentración de un benzoato o/y salicilato es de 0,5 a 50 p/v%, de preferencia de aproximadamente 3 a 20 p/v%.

En una inyección de la presente invención se pueden mezclar adecuadamente aditivos generalmente usados en una inyección, por ejemplo, un estabilizante (por ejemplo, ácido ascórbico, pirosulfito de

sodio y similares), un agente tensoactivo (por ejemplo, Polisorbato 80, macrogol y similares), un solubilizante (por ejemplo, glicerina, etanol y similares), un tampón (por ejemplo, ácido fosfórico y su sal de metal alcalino, ácido cítrico y su sal de metal alcalino, y similares), un agente isotonizante (por ejemplo, cloruro de sodio, cloruro de potasio y similares), un agente dispersante (por ejemplo, hidroxipropilmetilcelulosa, dextrina), un regulador de pH (por ejemplo, ácido clorhídrico, hidróxido de sodio y similares), un conservador (por ejemplo, parahidroxibenzoato de etilo, ácido benzoico, y similares), un agente disolvente (por ejemplo, glicerina concentrada, meglumina y similares), un auxiliar de disolución (por ejemplo, propilenglicol, sacarosa y similares), un agente suavizante (por ejemplo, glucosa, alcohol bencílico y similares), y similares. Estos aditivos generalmente se mezclan en una proporción generalmente usada en una inyección.

Es ventajoso que el pH de una inyección se regule de pH 2 a 12, de preferencia de pH 2,5 a 8,0 mediante la adición de un regulador de pH.

Se obtiene una inyección al disolver el compuesto de la presente invención o el fármaco concomitante y si se desea, un benzoato y/o un salicilato, y de ser necesario, los antes mencionados aditivos en agua. Estos se pueden disolver en cualquier medida, y se pueden disolver adecuadamente de la misma manera que en un método convencional para producir una inyección.

Una solución acuosa para inyección se puede calentar con ventaja, alternativamente se puede realizar, por ejemplo, esterilización por filtrado, esterilización por calentamiento a alta presión y similares de la misma manera que una inyección común, para proveer una inyección.

Puede ser ventajoso someter una solución acuosa para inyección a esterilización en caliente a alta presión a 100 a 121 °C

durante 5 a 30 min.

Además, también se puede producir una preparación con una propiedad antibacteriana de una solución para poder ser usada como preparación dividida y administrada múltiples veces.

[2] Preparación de liberación sostenida o preparación de liberación inmediata, y forma de elaborarla

Se prefiere una preparación de liberación sostenida que se obtiene, de ser deseable, al recubrir un núcleo que contiene el compuesto de la presente invención o el fármaco concomitante con un agente de película tal como una sustancia insoluble en agua, polímero que aumenta de tamaño y similares. Por ejemplo, se prefiere una preparación de liberación sostenida para administración oral de una administración de tipo una vez al día.

Como sustancia insoluble en agua usada en un agente formador de película se enumeran, por ejemplo, éteres de celulosa tal como etilcelulosa, butilcelulosa, y similares, ésteres de celulosa tales como acetato de celulosa, propionato de celulosa y similares, ésteres de polivinilo tales como acetato de polivinilo, butirato de polivinilo y similares, copolímeros de ácido acrílico/ácido metacrílico, copolímeros de metacrilato de metilo, copolímeros de metacrilato de etoxietilo/metacrilato de cinamoetilo/metacrilato de aminoalquilo, ácido poliacrílico, ácido polimetacrílico, copolímeros de ácido metacrílico alquilamida, poli(metacrilato de metilo), polimetacrilatos, polimetacrilamidas, copolímeros de metacrilato de aminoalquilo, poli(anhídrido metacrílico), copolímero de metacrilato de glicidilo, particularmente, polímeros con base de ácido acrílico tales como Eudoragit (Rohm Pharma) tal como Eudoragit RS–100, RL–100, RS–30D, RL–30D, RL–PO, RS–PO (copolímero de acrilato de etilo/metacrilato de metilo/cloruro de metacrilato de trimetilamonioetilo), Eudragit NE–30D (copolímero de metacrilato de metilo/acrilato de etilo), y similares, aceites hidrogenados tales como

aceite de ricino hidrogenado (por ejemplo, Lubri wax (Freund Corporation) y similares), ceras tales como cera de carnauba, éster de ácidos grasos de glicerina, parafina y similares, ésteres grasos de poliglicerina, y similares.

Como polímero que aumenta de tamaño se prefieren polímeros con un grupo de disociación ácido y que muestren aumento de tamaño dependiente de pH, y los polímeros con un grupo disociante ácido, que manifiestan pequeño aumento de tamaño en las regiones ácidas tales como el estómago, y gran aumento de tamaño en regiones neutras tales como en el intestino delgado y el intestino grueso.

Como dicho polímero con grupo disociante ácido y que muestra aumento de tamaño dependiente de pH se enumeran copolímeros de ácido poliacrílico con enlaces cruzados tales como, por ejemplo, Carbomer 934P, 940, 941, 974P, 980, 1342 y similares, policarbófilo, policarbófilo de calcio (los últimos dos fabricados por BF Goodrich), Hiviswako 103, 104, 105, 304 (todos fabricados por Wako Pure Chemical Industries, Ltd.), y similares.

El agente formador de película usado en una preparación de liberación sostenida también pueden contener una sustancia hidrofílica.

Como sustancia hidrofílica se puede mencionar, por ejemplo, polisacáridos que pueden contener un grupo sulfato tal como pululano, dextrina, alginato de metal alcalino y similares, polisacáridos con un grupo hidroxialquilo o grupo carboxialquilo tal como hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica y similares, metilcelulosa, polivinilpirrolidona, alcohol polivinílico, polietilenglicol, y similares.

El contenido de una sustancia insoluble en agua en el agente formador de película de una preparación de liberación sostenida es de aproximadamente 30 a aproximadamente 90% (p/p), de

preferencia de aproximadamente 35 a aproximadamente 80% (p/p), además de preferencia de aproximadamente 40 a aproximadamente 75% (p/p), el contenido de un polímero que aumenta de tamaño es de aproximadamente 3 a aproximadamente 30% (p/p), de preferencia de aproximadamente 3 a aproximadamente 15% (p/p). El agente formador de película también puede contener una sustancia hidrofílica, y en cuyo caso, el contenido de una sustancia hidrofílica en el agente formador de película es de aproximadamente 50% (p/p) o menos, de preferencia aproximadamente 5 a 40% (p/p), con mayor preferencia de aproximadamente 5 a 35% (p/p). Este % (p/p) indica % en peso basado en una composición de agente formador de película que se obtiene al eliminar el solvente (por ejemplo, agua, alcoholes inferiores tales como metanol, etanol, y similares) de una solución de agente formador de película.

La preparación de liberación sostenida se produce al preparar un núcleo que contiene un fármaco como los que se ejemplifican a continuación, luego se recubre el núcleo obtenido con una solución de agente formador de película preparada al disolver en calor una sustancia insoluble en agua, un polímero que aumenta de tamaño y similares, o al disolverlo o dispersarlo en un solvente.

I. Preparación del núcleo que contiene el fármaco

La forma del núcleo que contiene un fármaco que se recubre con un agente formador de película (en adelante, en ocasiones simplemente referido como núcleo) no tiene restricciones particulares, y de preferencia, el núcleo se forma como partículas tales como un gránulo o partícula fina.

Cuando el núcleo se compone de gránulos o partículas finas, el tamaño promedio de partículas es de preferencia de aproximadamente 150 a aproximadamente 2000 μm, con mayor preferencia, de aproximadamente 500 a aproximadamente 1400 μm.

La preparación del núcleo se puede realizar mediante un método de producción habitual. Por ejemplo, un excipiente, agente ligador, agente desintegrante, lubricante, estabilizante y similares adecuado, se mezcla con un fármaco, y la mezcla se somete a un método de granulación por extrusión húmeda, método de granulación de lecho fluido o similares, para preparar un núcleo.

El contenido de fármaco en un núcleo es de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 95% (p/p), de preferencia de aproximadamente 5,0 a aproximadamente 80% (p/p), con mayor preferencia de aproximadamente 30 a aproximadamente 70% (p/p).

Como excipiente contenido en el núcleo se pueden usar, por ejemplo, sacáridos tales como sacarosa, lactosa, manitol, glucosa y similares, almidón, celulosa cristalina, fosfato de calcio, almidón de maíz y similares. Entre ellos se prefieren celulosa cristalina, almidón de maíz.

Como agente ligador se usa, por ejemplo, alcohol polivinílico, hidroxipropilcelulosa, polietilenglicol, polivinil pirrolidone, Pluronic F68, goma arábiga, gelatina, almidón, y similares. Como agente desintegrante se usa, por ejemplo, carboximetilcelulosa cálcica (ECG505), croscarmelosa sódica (Ac–Di–Sol), polivinilpirrolidona reticulada (Crospovidona), hidroxipropilcelulosa inferior sustituida (L–HPC), y similares. Entre ellos se prefieren hidroxipropilcelulosa, polivinilpirrolidona, hidroxipropilcelulosa inferior sustituida. Como lubricante e inhibidor de coagulación se usa, por ejemplo, talco, estearato de magnesio y sus sales inorgánicas, y como lubricante se usa polietilenglicol y similares. Como estabilizante se usan ácidos tales como ácido tartárico, ácido cítrico, ácido succínico, ácido fumárico, ácido maleico, y similares.

También se puede preparar un núcleo, además del antes mencionado, por ejemplo, con un método de granulación con rodillo en el cual un fármaco o una mezcla de un fármaco con un excipiente,

lubricante y similares se agrega por porciones en una partícula portadora inerte que es el centro del núcleo, mientras se rocía un ligador disuelto en un solvente adecuado, por ejemplo agua, alcoholes inferiores (por ejemplo, metanol, etanol, y similares), y similares, un método de cobertura en bandeja, un método de cobertura de lecho fluido o a un método de granulación fundido. Como partícula portadora inerte se pueden usar, por ejemplo, los elaborados de sacarosa, lactosa, almidón, celulosa cristalina o ceras, y su tamaño promedio de partículas es de preferencia de aproximadamente 100 μm a aproximadamente 1500 μm.

Para separar un fármaco contenido en un núcleo y un agente formador de película, la superficie del núcleo puede estar recubierta por un agente protector. Como agente protector se pueden usar, por ejemplo, las antes mencionadas sustancias hidrofílicas, sustancias insolubles en agua y similares. Como agente protector se usa de preferencia polietilenglicol, y polisacáridos con un grupo hidroxialquilo o grupo carboxialquilo, con mayor de preferencia, hidroxipropilmetilcelulosa e hidroxipropilcelulosa. El agente protector puede contener, como estabilizante, ácidos tales como ácido tartárico, ácido cítrico, ácido succínico, ácido fumárico, ácido maleico y similares, y lubricantes tales como talco y similares. Cuando se usa el agente protector, la cantidad de cubierta es de aproximadamente 1 a aproximadamente 15% (p/p), de preferencia de aproximadamente 1 a aproximadamente 10% (p/p), con mayor preferencia de aproximadamente 2 a aproximadamente 8% (p/p), en base al núcleo.

El agente protector se puede recubrir por un método de cubierta habitual, y específicamente, el agente protector se puede recubrir con cubierta rociada del núcleo, por ejemplo, por un método de cubierta de lecho fluido, método de cubierta en bandeja y similares.

II. Cubierta del núcleo con un agente formador de película

Un núcleo obtenido en la etapa antes mencionada I se recubre con una solución formadora de película obtenida al disolver por calor la sustancia insoluble en agua antes mencionada y el polímero que aumenta de tamaño dependiente de pH, y una sustancia hidrofílica, o al disolverlas o dispersarlas en un solvente, para dar una preparación de liberación sostenida.

Como método para recubrir un núcleo con una solución formadora de película se enumera, por ejemplo, un método para cubrir por rociado y similares.

La proporción de la composición de una sustancia insoluble en agua, un polímero que aumenta de tamaño o sustancia hidrofílica en una solución formadora de película se selecciona en forma adecuada para que el contenido de estos componentes en una película de recubrimiento son los contenidos antes mencionado, respectivamente.

La cantidad de cubierta de un agente formador de película es de aproximadamente 1 a aproximadamente 90% (p/p), de preferencia de aproximadamente 5 a aproximadamente 50% (p/p), con mayor preferencia de aproximadamente 5 a aproximadamente 35% (p/p), en base el núcleo (sin incluir la cantidad de cubierta del agente protector).

Como solvente en una solución de agente formador de película, se puede usar agua o un solvente orgánico solo o en una de sus mezclas. En el caso de usar una mezcla, la relación de mezclado de agua con un solvente orgánico (agua/solvente orgánico: en peso) puede variar en un rango de 1 a 100%, y de preferencia de 1 a aproximadamente 30%. El solvente orgánico no está particularmente restringido si disuelve una sustancia insoluble en agua, y se usan por ejemplo, alcoholes inferiores tales como alcohol metílico, alcohol etílico, alcohol isopropílico, alcohol n–butílico y similares, alcanonas inferiores tales como acetona y similares, acetonitrilo, cloroformo,

cloruro de metileno y similares. Entre ellos se prefieren, alcoholes inferiores, y alcohol etílico, y el alcohol isopropílico es particularmente preferible. Se agregó agua y se usa de preferencia una mezcla con un solvente orgánico como solvente de un agente formador de película. En este caso, de ser necesario, también se puede agregar un ácido tal como ácido tartárico, ácido cítrico, ácido succínico, ácido fumárico, ácido maleico y similares en una solución formadora de película para estabilizar la solución del agente formador de película.

Una operación de recubrimiento de cobertura por rocío se puede efectuar por un método habitual de recubrimiento, y específicamente, se puede efectuar rociando un recubrimiento de una solución de agente formador de película sobre un núcleo mediante un método de recubrimiento en lecho fluido, un método de recubrimiento en bandeja y similares. En este caso, de ser necesario, también se puede agregar talco, óxido de titanio, estearato de magnesio, estearato de calcio, ácido silícico anhidro liviano, y similares como lubricante, y éster de ácido graso de glicerina, aceite de ricino hidrogenado, citrato de trietilo, alcohol cetílico, alcohol estearílico y similares como plastificante.

Después de cubrir con un agente formador de película, de ser necesario, se pueden mezclar un agente antiestático tal como talco y similares.

La preparación de liberación inmediata puede ser líquida (solución, suspensión, emulsión y similares) o sólida (partícula, píldora, comprimido y similares). Como preparación de liberación inmediata se usan agentes orales y agentes parenterales tales como inyección y similares, y se prefieren agentes orales.

La preparación de liberación inmediata, generalmente, también puede contener, además de un fármaco componente activo, portadores, aditivos y excipientes de uso convencional en el campo

de la preparación (en adelante, a veces abreviados como excipientes). El excipiente usado no está particularmente restringido siempre que sea un excipiente de uso común como excipiente de preparación. Por ejemplo, como excipiente para una preparación sólida oral se enumeran lactosa, almidón, almidón de maíz, celulosa cristalina (Avicel PH101, fabricado por Asahi Kasei Corporation, y similares), azúcar en polvo, azúcar granulado, manitol, ácido silícico anhidro liviano, carbonato de magnesio, carbonato de calcio, L–cisteína y similares, y de preferencia, almidón de maíz y manitol y similares. Estos excipientes se pueden usar solos o en combinación con dos o más. El contenido del excipiente es, por ejemplo, de aproximadamente 4,5 a aproximadamente 99,4% en p/p, de preferencia de aproximadamente 20 a aproximadamente 98,5% en p/p, de mayor preferencia de aproximadamente 30 a aproximadamente 97% en p/p, en base a la cantidad total de la preparación de liberación inmediata.

El contenido de un fármaco en la preparación de liberación inmediata se puede seleccionar adecuadamente en el rango de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 95% en p/p, de preferencia de aproximadamente 1 a aproximadamente 60% en p/p en base a la cantidad total de la preparación de liberación inmediata.

Cuando la preparación de liberación inmediata es una preparación sólida oral, generalmente contiene, además de los componentes antes mencionados, también un agente integrador. Como dicho agente integrador se usa, por ejemplo, carboximetilcelulosa cálcica (ECG–505, fabricado por Gotoku Yakuhin), croscarmelosa sódica (por ejemplo, Actisol, fabricado por Asahi Kasei Corporation), crospovidona (por ejemplo, Kollidon CL, fabricado por BASF), hidroxipropilcelulosa de baja sustitución (fabricada por Shin–Etsu Chemical Co., Ltd.), carboximetilalmidón (fabricado por Matsutani Kagaku K.K.), carboximetilalmidón sódico

(Exprotab, fabricado por Kimura Sangyo), almidón parcialmente pregelatinizado (PCS, fabricado por Asahi Kasei Corporation), y similares, y se pueden usar por ejemplo, los que desintegran un gránulo al absorber agua en contacto con el agua, para causar aumento de tamaño, o formar un canal entre un ingrediente efectivo que constituye el núcleo y un excipiente. Estos agentes desintegrantes se pueden usar solos o en combinación de dos o más. La cantidad de agente desintegrante usado se selecciona en forma adecuada según el tipo y la cantidad que se mezcla de un fármaco usado, el diseño de una propiedad de liberación, y similares, y por ejemplo, de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 30% en p/p, de preferencia de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 15% en p/p, en base a la cantidad total de la preparación de liberación inmediata.

Cuando la preparación de liberación inmediata es una preparación sólida oral, también puede contener, además de la composición antes mencionada, si se desea, un aditivo. Como dicho aditivo se usan, por ejemplo, un aglutinante (por ejemplo, sacarosa, gelatina, goma arábiga en polvo, metilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, carboximetilcelulosa, polivinilpirrolidona, pululano, dextrina, y similares), un lubricante (por ejemplo, polietilenglicol, estearato de magnesio, talco, ácido silícico anhidro ligero (por ejemplo, Aerosil (Nippon Aerosil)), un tensoactivo (por ejemplo, tensoactivos aniónicos tales como alquilsulfato de sodio, y similares, tensoactivos no iónicos tales como éster de ácido graso de polioxietileno y éster de ácido graso de polioxietilensorbitano, derivados de aceite de castor de polioxietileno, y similares), un colorante (por ejemplo, sustancia colorante de alquitrán, caramelo, óxido de hierro rojo, óxido de titanio, riboflavinas), de ser necesario, un agente estimulante del apetito (por ejemplo, agente edulcorante, agente saborizante y similares), un adsorbente, un conservante, un

agente humectante, un agente antiestático, y similares. Además, como estabilizante también se pueden agregar un ácido orgánico tal como ácido tartárico, ácido cítrico, ácido succínico, ácido fumárico y similares.

Como el aglutinante antes mencionado, de preferencia se usa hidroxipropilcelulosa, polietilenglicol y polivinilpirrolidona y similares.

La preparación de liberación inmediata se puede preparar en base a una tecnología habitual para producir preparaciones, donde se mezclan los componentes antes mencionados, y de ser necesario, posterior amasado de la mezcla, y moldeo de ella. El mezclado antes mencionado se realiza por los métodos generalmente usados, por ejemplo, mezclado, amasado, y similares. Específicamente, cuando se forma una preparación de liberación inmediata, por ejemplo, en una partícula, se puede preparar, por el mismo medio que en el método antes mencionado para preparar un núcleo de una preparación de liberación sostenida, al mezclar los componentes con un granulador vertical, amasador universal (fabricado por Hata Tekkosho), granulador de lecho fluido FD–5S (fabricado por Powrex Corporación), y similares, y luego granular la mezcla mediante un método de granulación por expresión húmeda, método de lecho fluido y similares.

Una vez obtenidas, la preparación de liberación inmediata y la preparación de liberación sostenida se pueden preparar en productos o elaborar productos adecuados junto con los excipientes de la preparación y similares, por separado, por un método ordinario, luego se pueden administrar simultáneamente o se pueden administrar en combinación con cualquier intervalo de administración, o se pueden preparar en una preparación oral (por ejemplo, gránulo, partícula fina, comprimido, cápsula y similares) o fabricar en una preparación oral en forma adecuada junto con los excipientes de preparación y similares. También se puede permitir su preparación

como gránulos o partículas finas, y se rellena en la misma cápsula que se usa como preparación para la administración oral.

[3] Agente desintegrante rápido sublingual, bucal o intraoral y su preparación

Los agentes desintegrantes rápidos sublinguales, bucales o intraorales pueden ser una preparación sólida tal como un comprimido y similares, o puede ser un parche (película) para la membrana mucosa oral.

Como agente desintegrante rápido sublingual, bucal o intraoral se prefiere una preparación que contiene el compuesto de la presente invención o el fármaco concomitante y un excipiente. Puede contener también agentes auxiliares tales como un lubricante, un agente isotonizante, un portador hidrofílico, un polímero dispersable en agua, un estabilizante y similares. Además, para la fácil absorción y mayor biodisponibilidad, también puede contener, β–ciclodextrina o derivados de β–ciclodextrina (por ejemplo, hidroxipropil–β–ciclodextrina y similares) y otros.

Como el excipiente antes mencionado se enumeran lactosa, sacarosa, D–manitol, almidón, celulosa cristalina, ácido silícico anhidro liviano, y similares. Como lubricante se prefiere estearato de magnesio, estearato de calcio, talco, sílice coloidal, y similares, y particularmente, se prefiere estearato de magnesio y sílice coloidal. Como agente isotonizante, se enumeran cloruro de sodio, glucosa, fructosa, manitol, sorbitol, lactosa, sacarosa, glicerina, urea y similares, y particularmente, se prefiere manitol. Como portador hidrofílico se enumeran portadores hidrofílicos que aumentan de tamaño tales como celulosa cristalina, etilcelulosa, polivinilpirrolidona reticulable, ácido silícico anhidro liviano, ácido silícico, fosfato dicálcico, carbonato de calcio y similares, y particularmente, se prefiere celulosa cristalina (por ejemplo, celulosa microcristalina y similares). Como polímero dispersable en agua se

enumeran gomas (por ejemplo, goma tragacanto, goma acacia, goma ciamoposis), alginatos (por ejemplo, alginato de sodio), derivados de celulosa (por ejemplo, metilcelulosa, carboximetilcelulosa, hidroximetilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa), gelatina, almidón hidrosoluble, ácidos poliacrílicos (por ejemplo, carbómero), ácido polimetacílico, alcohol polivinílico, polietilenglicol, polivinilpirrolidona, policarbofilo, ascorbato, palmitatos y similares, y se prefiere hidroxipropilmetilcelulosa, ácido poliacrílico, alginato, gelatina, carboximetilcelulosa, polivinilpirrolidona, polietilenglicol y similares. Particularmente, se prefiere hidroxipropilmetilcelulosa. Como estabilizante se enumeran cisteína, tiosorbitol, ácido tartárico, ácido cítrico, carbonato de sodio, ácido ascórbico, glicina, sulfito de sodio y similares, y particularmente, se prefieren ácido cítrico y ácido ascórbico.

El agente de rápida desintegración sublingual, bucal o intraoral se puede producir al mezclar el compuesto de la presente invención o el fármaco concomitante y un excipiente por un método conocido *per se*. Además, si se desea, se pueden mezclar agentes auxiliares tales como un lubricante, agente isotonizante, portador hidrofílico, polímero dispersable en agua, estabilizante, agente colorante, agente endulzante, conservante y similares. El agente de rápida desintegración sublingual, bucal o intraoral se obtiene al mezclar los antes mencionados componentes simultáneamente o con un intervalo, y luego someter la mezcla a moldeado para formar los comprimidos con presión. Para obtener la dureza adecuada, también se puede permitir humedecer los materiales mediante un solvente tal como agua, alcohol y similares si se desea antes y después del proceso de preparación del comprimido, y después del moldeado se secan los materiales y se obtiene el producto.

En el caso de moldeado en un parche para membrana mucosa (película), el compuesto de la presente invención o el fármaco

concomitante y el antes mencionado polímero dispersable en agua (de preferencia, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa), excipiente y similares se disuelven en un solvente tal como agua y similares, y la solución obtenida se moldea para obtener una película. Además, también se pueden agregar aditivos tales como un plastificante, estabilizante, antioxidante, conservante, agente colorante, tampón, agente edulcorante y similares. Para impartir adecuada elasticidad a la película pueden contener glicoles tales como polietilenglicol, propilenglicol y similares, o para aumentar la adhesión de la película a un revestimiento de membrana mucosa intraoral, un polímero bioadhesivo (por ejemplo, policarbofilo, carbopol). En el moldeado se vuelca una solución sobre la superficie no adhesiva, se esparce con espesor uniforme (de preferencia, aproximadamente 10 a 1000 micrones) con una herramienta de aplicación tal como una espátula y similares; luego se seca la solución para formar una película. Puede ser ventajoso que la película así formada se seque a temperatura ambiente o con calor, y se corte la superficie deseada.

Como agente de desintegración rápida intraoral preferible, se enumeran agentes de dosificación de dispersión rápida sólida compuestos por un cuerpo reticulado que comprende el compuesto de la presente invención o el fármaco concomitante, y un portador soluble en agua o difusible en agua que es inerte respecto del compuesto de la presente invención o fármaco concomitante. Este cuerpo reticulado se obtiene al sublimar un solvente a partir de la composición sólida constituida por una solución preparada al disolver el compuesto de la presente invención o el fármaco concomitante en un solvente adecuado.

Es preferible que la composición de un agente desintegrante rápido intraoral contenga un agente formador de matriz y un componente secundario, además del compuesto de la presente

invención o el fármaco concomitante.

Los ejemplos del agente formador de matriz incluyen proteínas animales o proteínas vegetales tales como gelatinas, dextrinas, proteína de semillas de soya, de semillas de trigo y de semillas de psillium y similares; sustancias gomosas tales como goma arábiga, goma guar, agar, goma xantán y similares; polisacáridos; ácidos algínicos; carboximetilcelulosas; carrageninas; dextranos; pectinas; polímeros sintéticos tales como polivinilpirrolidona y similares; sustancias derivadas de un complejo de gelatina–goma arábiga, y similares. Además, contiene sacáridos tales como manitol, dextrosa, lactosa, galactosa, trehalosa y similares; sacáridos cíclicos tales como ciclodextrina y similares; sales inorgánicas tales como fosfato de sodio, cloruro de sodio y silicato de aluminio y similares; aminoácidos con 2 a 12 átomos de carbono tales como glicina, L–alanina, ácido L–aspártico, ácido L–glutámico, L–hidroxiprolina, L–isoleucina, L–leucina, L–fenilalanina y similares.

Uno o más de los agentes formadores de matriz se pueden introducir en una solución o suspensión antes de la solidificación. Dicho agente formador de matriz puede estar presente además de un agente tensoactivo, o puede estar presente cuando se excluye un agente tensoactivo. Los agentes formadores de matriz contribuyen a mantener el compuesto de la presente invención o el fármaco concomitante en la solución o suspensión en condición difusa, además de la formación de la matriz.

La composición puede contener componentes secundarios tales como un conservador, antioxidante, agente tensoactivo, agente espesante, agente colorante, agente controlador del pH, agente saborizante, agente edulcorante, agente enmascarador del sabor del alimento y similares. Como agente colorante adecuado, se enumeran óxidos de hierro negro y amarillo y colorantes FD & C tales como FD & C Blue 2, FD & C Red 40 y similares fabricado por Ellis y Everard.

Los ejemplos de agente saborizante adecuado incluyen sabor menta, frambuesa, orozuz, naranja, limón, toronja, caramelo, vainilla, cereza, uva y sus combinaciones. Los ejemplos de agente controlador de pH adecuado incluyen ácido cítrico, ácido tartárico, ácido fosfórico, ácido clorhídrico y ácido maleico. Los ejemplos de adecuado agente edulcorante incluyen aspartame, acesulfame K y taumatina y similares. Los ejemplos de adecuados agentes enmascaradores del sabor del alimento incluyen bicarbonato de sodio, resina de intercambio iónico, compuestos de inclusión de ciclodextrina, sustancias adsorbentes y apomorfina microcapsulada.

La preparación contiene el compuesto de la presente invención o el fármaco concomitante en una cantidad en general de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 50% en peso, de preferencia de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 30% en peso, y se prefieren las preparaciones (tales como los antes mencionados agente sublingual, bucal y similares) que puede disolver 90% o más del compuesto de la presente invención o el fármaco concomitante (en agua) dentro del margen temporal de aproximadamente 1 a aproximadamente 60 min, de preferencia de aproximadamente 1 a aproximadamente 15 min, con mayor preferencia de aproximadamente 2 a aproximadamente 5 min, y preparaciones desintegrantes rápidas intraorales que se desintegran dentro del rango de 1 a 60 s, de preferencia de 1 a 30 s, con mayor preferencia de 1 a 10 s, después de colocado en una cavidad oral.

El contenido del excipiente antes mencionado en toda la preparación es de aproximadamente 10 a aproximadamente 99% en peso, de preferencia de aproximadamente 30 a aproximadamente 90% en peso. El contenido de β–ciclodextrina o derivado de β–ciclodextrina en la totalidad de la preparación es de 0 a aproximadamente 30% en peso. El contenido del lubricante en toda la preparación es de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 10%

en peso, de preferencia de aproximadamente 1 a aproximadamente 5% en peso. El contenido del agente isotonizante en toda la preparación es de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 90% en peso, de preferencia, de aproximadamente 10 a aproximadamente 70% en peso. El contenido del portador hidrofílico en toda la preparación es de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 50% en peso, de preferencia, de aproximadamente 10 a aproximadamente 30% en peso. El contenido del polímero dispersable en agua en toda la preparación es de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 30% en peso, de preferencia, de aproximadamente 10 a aproximadamente 25% en peso. El contenido del estabilizador en toda la preparación es de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 10% en peso, de preferencia, de aproximadamente 1 a 5% en peso. La preparación antes mencionada también puede contener aditivos tales como un agente colorante, agente endulzante, conservante y similares, de ser necesario.

La dosificación de un agente de combinación de la presente invención difiere según el tipo de compuesto de la presente invención, la edad, el peso corporal, su condición, su forma farmacológica, método de administración, periodo de administración y similares, y por ejemplo, para un paciente con cáncer de próstata (adulto, peso corporal: aproximadamente 60 kg), el agente de combinación se administra por vía intravenosa, con una dosis de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 1000 mg/kg/día, de preferencia aproximadamente 0,01 a aproximadamente 100 mg/kg/día, con mayor preferencia aproximadamente 0,1 a aproximadamente 100 mg/kg/día, en particular aproximadamente 0,1 a aproximadamente 50 mg/kg/día, especialmente aproximadamente 1,5 a aproximadamente 30 mg/kg/día, en términos del compuesto de la presente invención o el fármaco concomitante, respectivamente, una o varias veces divididas por día. Obviamente, dado que la dosis

antes descrita varía según diversas condiciones, cantidades menores que la dosificación antes mencionada a veces pueden ser suficientes, además, en ocasiones se requieren cantidades superiores administradas.

La cantidad del fármaco concomitante se puede fijar en cualquier valor a menos que haya problemas con los efectos secundarios. La dosis diaria en términos del fármaco concomitante difiere según la severidad de los síntomas, edad, sexo, peso corporal, diferencia de sensibilidad del sujeto, periodo de administración, intervalo, y naturaleza, farmacia, tipo de preparación farmacéutica, tipo de ingrediente efectivo, y similares, y sin restricciones particulares, y la cantidad del fármaco, en el caso de administración oral es por ejemplo, en general de aproximadamente 0,001 a 2000 mg, de preferencia de aproximadamente 0,01 a 500 mg, con mayor preferencia de aproximadamente 0,1 a 100 mg, por 1 kg de mamífero y generalmente se administra de una 4 veces de dosis divididas por día.

En la administración de un agente de combinación de la presente invención, el compuesto de la presente invención se puede administrar tras la primera administración del fármaco concomitante o viceversa, aunque se pueden administrar simultáneamente. Cuando se administran con intervalos, el intervalo difiere según el ingrediente efectivo que se administra, la forma del fármaco y el método de administración, y por ejemplo, cuando el fármaco concomitante se administra primero, se ejemplifica un método en el cual el compuesto de la presente invención se administra dentro de un rango de tiempo de 1 min a 3 días, de preferencia de 10 min a 1 día, con mayor preferencia de 15 min a 1 h después de la administración del fármaco concomitante. Cuando el compuesto de la presente invención se administra primero, se ejemplifica un método en el cual el fármaco concomitante se administra dentro del rango de

tiempo de 1 min a 1 día, de preferencia de 10 min a 6 h, con mayor preferencia de 15 min a 1 h después de la administración del compuesto de la presente invención.

En un método de administración de preferencia, por ejemplo, el fármaco concomitante formado en una preparación de administración oral se administra por vía oral en una dosis diaria de aproximadamente 0,001 a 200 mg/kg, y aproximadamente 15 min después, el compuesto de la presente invención que se ha formado en una preparación de administración oral se administra por vía oral en una dosis diaria de aproximadamente 0,005 a 100 mg/kg.

Por otra parte, la composición farmacéutica o el fármaco concomitante de la presente invención se pueden usar concurrentemente con una terapéutica no farmacológica, tales como (1) cirugía, (2) quimioterapia hipertensiva con angiotensina II etc., (3) terapia génica, (4) termoterapia, (5) crioterapia, (6) cauterización con láser, (7) radioterapia, y similares.

Por ejemplo, el uso de la composición farmacéutica de la presente invención o el fármaco concomitante de la presente invención antes o después de la operación y similares, o antes o después de un tratamiento con una combinación de dos o tres de sus tipos provee efectos de prevención de expresión de resistencia, extensión de la supervivencia libre de enfermedad, supresión de metástasis o recurrencia de cáncer, apotanasia y similares.

Además, un tratamiento con la composición farmacéutica de la presente invención o el fármaco concomitante de la presente invención también se puede combinar con una terapia de apoyo [(i) administración de antibióticos (por ejemplo, β–lactama tal como pansporina y similares, macrólidos tales como claritromicina y similares, etc.) para diversas infecciones asociadas, (ii) administración de infusión de altas calorías, preparaciones de aminoácidos, preparaciones generales de vitaminas para mejorar la

desnutrición, (iii) administración de morfina para el alivio de dolor, (iv) administración de agentes farmacéuticos para reducir los efectos secundarios tales como náuseas, vómitos, anorexia, diarrea, leucopenia, trombocitopenia, baja concentración de hemoglobina, caída de cabello, hepatopatías, renopatía, DIC, fiebre y similares y (v) administración de agentes farmacéuticos para suprimir la resistencia del cáncer a múltiples fármacos, etc.

Los ejemplos específicos de un agente farmacéutico para este objeto, por ejemplo, "antiemético", incluyen mejoradores de la motilidad gástrica tales como antagonistas de 5–HT_3 (por ejemplo, ondansetrona, clorhidrato de tropisetrona, azasetrona, ramosetrona, granisetrona, mesilato de dolasetrona, palonosetrona, y similares); antagonistas del receptor NK1 (por ejemplo, sendide, CP–99994, CP–100263, CP–122721–1, CP–96345, FK224, RPR100893, NKP608, aprepitant (EMEND (marca registrada)), y similares; antagonistas de 5–HT_4 (por ejemplo, domperidona, mosapride, metoclopramida y similares), y otros; reguladores de la motilidad del tracto gastrointestinal tales como trimebutina, y similares; agentes farmacéuticos de fenotiazina tales como maleato de procloroperazina, prometazina, tietilperazina, y similares; tranquilizantes tales como haloperidol, fenolftalinato de cloropromazina, diazepam, droperidol, y similares; esteroides tales como dexametasona, prednisolona, betametasona, triamcinolona, y similares; así como ácido de dimetilhidrina, difenhidramina, hioscina, bromhidrato de hioscina, tetrabenazina, y similares.

De preferencia, la composición farmacéutica de la presente invención o el agente de combinación de la presente invención se administra por vía oral (incluso preparaciones de liberación sostenida), intravenosa (incluso bolos, infusiones y clatratos), subcutánea e intramuscular (incluso bolos, infusiones y preparaciones de liberación sostenida), transdérmica, intratumoral o

proximal antes o después del tratamiento antes descrito.

Como periodo para administrar la composición farmacéutica de la presente invención o el agente de combinación de la presente invención antes de una cirugía, etc., por ejemplo, se puede administrar 1 vez aproximadamente 30 min a 24 h antes de la cirugía, etc., o en 1 a 3 ciclos aproximadamente 3 meses a 6 meses antes de la cirugía, etc. De esta manera, se puede realizar la cirugía, etc. con facilidad, dado, por ejemplo, que se puede reducir un tejido canceroso al administrar la composición farmacéutica de la presente invención o el agente de combinación de la presente invención antes de la cirugía, y similares.

Como periodo para administrar la composición farmacéutica de la presente invención o el agente de combinación de la presente invención después de la cirugía, y similares, por ejemplo, se puede administrar repetidas veces durante unas pocos semanas a 3 meses, aproximadamente 30 min a 24 h después de la cirugía, y similares. De esta manera, tiene efecto sobre la cirugía, etc. que aumenta por la administración de la composición farmacéutica de la presente invención o el agente de combinación de la presente invención tras la cirugía, y similares.

Ejemplos

La presente invención se explica en detalle a continuación haciendo referencia a Ejemplos de referencia, Ejemplos, Ejemplos de preparación y Ejemplos experimentales, que no deben ser interpretados como limitativos.

La elución en cromatografía en columna en los Ejemplos de referencia y los Ejemplos se realizó bajo observación por TLC (cromatografía en capa fina). En la observación en TLC, se usó placa de Kieselgel $60F_{254}$ (Merck) como una placa de TLC, el solvente usado como un solvente de elución en la cromatografía en columna se empleó como un solvente de desarrollo y el medio de detección

utilizado era un detector UV. Como gel de sílice para columna, se usó Kieselgel $60F_{254}$ (malla 70–230) fabricado por Merck nuevamente o Purif–Pack (SI 60 μm), Purif–Pack (NH 60 μm) fabricado por MORITEX. Los espectros de RMN se muestran por RMN protónica con tetrametilsilano como el estándar interno, usando VARIAN Gemini–200 (espectrómetro de tipo 200 MHz), VARIAN Mercury–300 (300 MHz) o JMTCO400/54 (tipo 400 MHz) (JEOL Ltd.); los valores δ se expresan en ppm. La reacción usando un aparato de reacción de microondas se realizó utilizando Emris Optimizer fabricado por Biotage. El espectro de absorción infrarrojo (IR) se midió usando Paragon 1000 fabricado por PerkinElmer. El punto de fusión se midió usando un aparato de medición del punto de fusión de tipo MPA100, Optimelt, fabricado por Stanford Research System.

Las abreviaturas usadas en los Ejemplos de referencia y los Ejemplos significan lo siguiente.

s : singulete

br : amplio

brs: singulete amplio

d : doblete

t : triplete

q : cuarteto

dd : doble doblete

ddd: doble doble doblete

dt : doble triplete

dq : doble cuarteto

m : multiplete

J : constante de acoplamiento

Hz : hertz

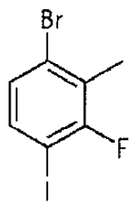
THF : tetrahidrofurano

DMSO: dimetilsulfóxido

DMF : N,N–dimetilformamida

Ejemplo de referencia 1

1–bromo–3–fluoro–4–yodo–2–metilbenceno

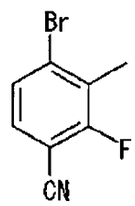


Una solución de diisopropilamina (6,06 mL) en THF (100 mL) se enfrió hasta –78 °C, n–butil–litio–hexano (24,9 mL, 1,6 mol/L) se añadió gota a gota y, después de completar la adición gota a gota, la mezcla se agitó a –78 °C durante 1 h. Posteriormente, una solución de 4–bromo–2–fluoro–1–yodobenceno (10,0 g) en THF (50 mL) se añadió gota a gota y la mezcla luego se agitó a –78 °C durante 1 h. Se agregó yoduro de metilo (2,90 mL) gota a gota a –78 °C y la mezcla luego se agitó a –78 °C durante 2 h y la mezcla se calentó hasta temperatura ambiente. Se agregó agua a la mezcla de reacción y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se lavó con salmuera saturada, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida para dar el compuesto del título en forma de un aceite marrón (rendimiento: 10,5 g, rendimiento: 100%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 2,37 (3H, d, J = 2,6 Hz), 7,10 (1H, dd, J = 8,5, 1,1 Hz), 7,39–7,46 (1H, m).

Ejemplo de referencia 2

4–bromo–2–fluoro–3–metilbenzonitrilo



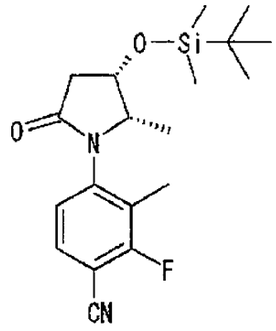
A una solución de 1–bromo–3–fluoro–4–yodo–2–metilbenceno (2,00 g) en DMF (15 mL) se añadieron cianuro de cinc (336 mg) y tetrakis(trifenilfosfina)paladio(0) (367 mg) y la mezcla se agitó bajo una atmósfera de argón a 100 °C durante 5,5 h. La mezcla de reacción se añadió al agua y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se lavó con salmuera saturada, se secó sobre

sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice para dar el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 1,21 g, 89%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 2,39 (3H, d, J = 2,6 Hz), 7,29–7,36 (1H, m), 7,44–7,50 (1H, m).

Ejemplo de referencia 3

4–[(2S,3S)–3–(ter–butildimetilsililoxi)–2–metil–5–oxopirrolidin–1–il]–2–fluoro–3–metilbenzonitrilo

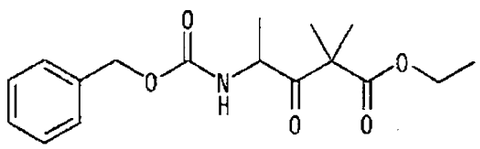


A una solución de 4–bromo–2–fluoro–3–metilbenzonitrilo (1,10 g), (4S,5S)–4–(ter–butildimetilsililoxi)–5–metilpirrolidin–2–ona (1,18 g), carbonato de cesio (2,51 g), tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0) (235 mg) y 4,5–bis(difenilfosfino)–9,9–dimetilxanteno (297 mg) en dioxano (30 mL) se agitó bajo una atmósfera de argón a 80 °C durante 8 h. La mezcla de reacción se añadió al agua y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se lavó con salmuera saturada, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice para dar el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 347 mg, 19%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,11 (6H, d, J = 7,2 Hz), 0,91 (9H, s), 1,04 (3H, d, J = 6,4 Hz), 2,19 (3H, d, J = 2,3 Hz), 2,50 (1H, dd, J = 16,8, 2,4 Hz), 2,78 (1H, dd, J = 16,8, 5,4 Hz), 4,09–4,22 (1H, m), 4,44–4,50 (1H, m), 6,96 (1H, d, J = 8,7 Hz), 7,45–7,53 (1H, m).

Ejemplo de referencia 4

4–{[(benciloxi)carbonil]amino}–2,2–dimetil–3–oxopentanoato de etilo

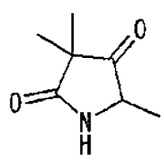


Una solución de (4S)–4–{[(benciloxi)carbonil]amino}–3–oxopentanoato de etilo (13,8 g) sintetizada de acuerdo con el método descrito en Tetrahedron Letters, vol. 41, páginas 3979–3982, 2000, yoduro de metilo (8,79 mL) y carbonato de potasio (13,01 g) en acetona (200 mL) se agitó a reflujo durante la noche. La mezcla de reacción se añadió al agua y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se lavó con salmuera saturada, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice para dar el compuesto del título en forma de un aceite incoloro (rendimiento: 11,82 g, 78%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,22 (3H, t, J = 7,2 Hz), 1,31 (3H, d, J = 6,8 Hz), 1,41 (3H, s), 1,43 (3H, s), 4,06–4,22 (2H, m), 4,74 (1H, dd, J = 8,5, 7,2 Hz), 5,02–5,17 (2H, m), 5,23–5,37 (1H, m), 7,28–7,46 (5H, m).

Ejemplo de referencia 5

3,3,5–trimetilpirrolidin–2,4–diona



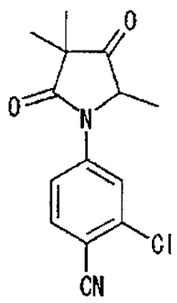
A una solución de 4–{[(benciloxi)carbonil]amino}–2,2–dimetil–3–oxopentanoato de etilo (10,5 g) en metanol (150 mL) se añadió paladio sobre carbón al 10% (que contiene 50% de agua, 5,0 g) y la mezcla se agitó bajo una atmósfera de hidrógeno durante la noche. La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró a presión

reducida. El sólido obtenido se lavó con hexano para dar el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 4,00 g, 87%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,26 (3H, s), 1,27 (3H, s), 1,40 (3H, d, J = 6,8 Hz), 4,08 (1H, q, J = 6,9 Hz), 6,07 (1H, brs).

Ejemplo de referencia 6

2–cloro–4–(3,3,5–trimetil–2,4–dioxopirrolidin–1–il)benzonitrilo

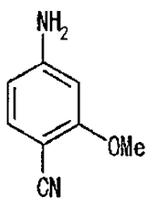


Usando 4–bromo–2–clorobenzonitrilo (199 mg), 3,3,5–trimetilpirrolidin–2,4–diona (100 mg), carbonato de cesio (346 mg), tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0) (65 mg) y 4,5–bis(difenilfosfino)–9,9–dimetilxanteno (82 mg) y de la misma manera que en el Ejemplo de referencia 3, se obtuvo el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 135 mg, 69%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,35 (3H, s), 1,40 (3H, s), 1,46 (3H, d, J = 6,8 Hz), 4,61 (1H, q, J = 6,9 Hz), 7,55 (1H, dd, J = 8,6, 2,1 Hz), 7,72 (1H, d, J = 8,5 Hz), 7,87 (1H, d, J = 2,1 Hz).

Ejemplo de referencia 7

4–amino–2–metoxibenzonitrilo



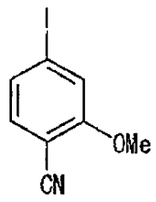
Se suspendieron 2–metoxi–4–nitrobenzonitrilo (5,0 g) y hierro en polvo (7,84 g) en etanol (150 mL) y se añadió ácido clorhídrico concentrado (35 mL) gota a gota a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 h, neutralizó

con carbonato hidrogenado de sodio y se extrajo con acetato de etilo. El extracto se lavó con salmuera saturada, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice y el sólido obtenido se lavó con hexano para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color marrón rojizo (rendimiento: 3,05 g, 73%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 3,86 (3H, s), 4,15 (2H, brs), 6,16 (1H, d, J = 2,1 Hz), 6,22 (1H, dd, J = 8,3, 2,1 Hz), 7,30 (1H, d, J = 8,3 Hz).

Ejemplo de referencia 8

4–yodo–2–metoxibenzonitrilo

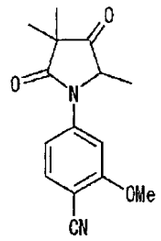


A una suspensión de yoduro de cobre (4,63 g) en acetonitrilo (50 mL) se añadió nitrito de ter–butilo (3,61 mL) a temperatura ambiente, se agregó una solución de 4–amino–2–metoxibenzonitrilo (3,00 g) en acetonitrilo (30 mL) gota a gota a 65 °C y, después de completar la adición gota a gota, la mezcla luego se agitó a 65 °C durante 2 h. La mezcla de reacción se añadió una solución acuosa de tiosulfato de sodio y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se lavó con salmuera saturada, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice y el sólido obtenido se lavó con éter diisopropílico para dar el compuesto del título en forma de un sólido amarillo (rendimiento: 2,56 g, 49%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 3,93 (3H, s), 7,24 (1H, d, J = 8,1 Hz), 7,33 (1H, d, J = 1,1 Hz), 7,39 (1H, dd, J = 8,1, 1,1 Hz).

Ejemplo de referencia 9

2–metoxi–4–(3,3,5–trimetil–2,4–dioxopirrolidin–1–il)benzonitrilo

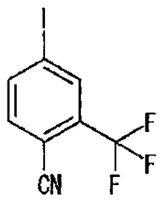


Usando 4–yodo–2–metoxibenzonitrilo (835 mg), 3,3,5–trimetilpirrolidin–2,4–diona (350 mg), carbonato de cesio (1,21 g), tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0) (227 mg) y 4,5–bis(difenilfosfino)–9,9–dimetilxanteno (287 mg) y de la misma manera que en el Ejemplo de referencia 3, se obtuvo el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 330 mg, 49%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,35 (3H, s), 1,40 (3H, s), 1,46 (3H, d, J = 6,8 Hz), 3,97 (3H, s), 4,62 (1H, q, J = 6,9 Hz), 6,88 (1H, dd, J = 8,5, 2,1 Hz), 7,60 (1H, d, J = 8,5 Hz), 7,66 (1H, d, J = 2,1 Hz).

Ejemplo de referencia 10

4–yodo–2–(trifluorometil)benzonitrilo

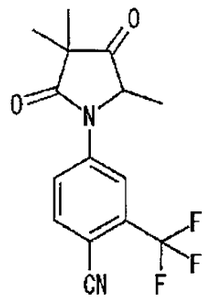


Usando yoduro de cobre (6,14 g), nitrito de ter–butilo (4,79 mL) y 4–amino–2–(trifluorometil)benzonitrilo (5,00 g) y de la misma manera que en el Ejemplo de referencia 8, se obtuvo el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo claro (rendimiento: 4,40 g, 55%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 7,54 (1H, d, J = 8,1 Hz), 8,06 (1H, dd, J = 8,1, 1,1 Hz), 8,14 (1H, s).

Ejemplo de referencia 11

2–(trifluorometil)–4–(3,3,5–trimetil–2,4–dioxopirrolidin–1–il)benzonitrilo

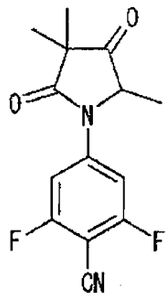


Usando 4–yodo–2–(trifluorometil)benzonitrilo (957 mg), 3,3,5–trimetilpirrolidin–2,4–diona (350 mg), carbonato de cesio (1,21 g), tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0) (227 mg) y 4,5–bis(difenilfosfino)–9,9–dimetilxanteno (287 mg) y de la misma manera que en el Ejemplo de referencia 3, se obtuvo el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 452 mg, 59%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,36 (3H, s), 1,42 (3H, s), 1,48 (3H, d, J = 7,0 Hz), 4,68 (1H, q, J = 6,8 Hz), 7,86 (1H, dd, J = 8,7,1,5 Hz), 7,91 (1H, d, J = 8,7 Hz), 8,12 (1H, d, J = 1,5 Hz).

Ejemplo de referencia 12

2,6–difluoro–4–(3,3,5–trimetil–2,4–dioxopirrolidin–1–il)benzonitrilo

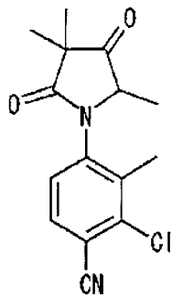


Usando 4–bromo–2,6–difluorobenzonitrilo (502 mg), 3,3,5–trimetilpirrolidin–2,4–diona (250 mg), carbonato de cesio (866 mg), tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0) (162 mg) y 4,5–bis(difenilfosfino)–9,9–dimetilxanteno (205 mg) y de la misma manera que en el Ejemplo de referencia 3, se obtuvo el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 305 mg, 62%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,35 (3H, s), 1,40 (3H, s), 1,50 (3H, d, J = 7,0 Hz), 4,54 (1H, q, J = 7,0 Hz), 7,38–7,45 (2H, m).

Ejemplo de referencia 13

2–cloro–3–metil–4–(3,3,5–trimetil–2,4–dioxopirrolidin–1–il)benzonitrilo

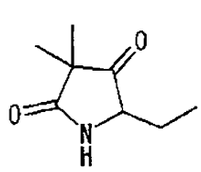


Usando 2–cloro–4–yodo–3–metilbenzonitrilo (894 mg) sintetizado de 4–amino–2–cloro–3–metilbenzonitrilo en el mismo método que en el Ejemplo de referencia 8, 3,3,5–trimetilpirrolidin–2,4–diona (350 mg), carbonato de cesio (1,21 g), tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0) (227 mg) y 4,5–bis(difenilfosfino)–9,9–dimetilxanteno (287 mg) y de la misma manera que en el Ejemplo de referencia 3, se obtuvo el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 46 mg, 6%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,30 (3H, d, J = 6,8 Hz), 1,38 (3H, brs), 1,40 (3H, s), 2,31 (3H, s), 4,15–4,58 (1H, m), 7,21 (1H, d, J = 8,3 Hz), 7,63 (1H, d, J = 8,3 Hz).

Ejemplo de referencia 14

5–etil–3,3–dimetilpirrolidin–2,4–diona

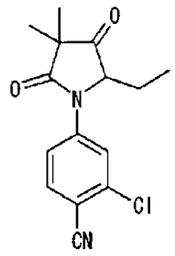


Usando 4–{[(benciloxi)carbonil]amino}–3–oxohexanoato de etilo y de la misma manera que en el Ejemplo de referencia 4 y Ejemplo de referencia 5, se obtuvo el compuesto del título en forma de un sólido incoloro.

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,97 (3H, t, J = 7,5 Hz), 1,23 (3H, s), 1,26 (3H, s), 1,63–1,94 (2H, m), 3,98 (1H, dd, J = 6,6, 5,1 Hz), 6,28 (1H, brs).

Ejemplo de referencia 15

2–cloro–4–(5–etil–3,3–dimetil–2,4–dioxopirrolidin–1–il)benzonitrilo

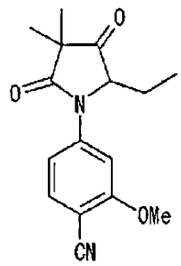


Usando 4–bromo–2–clorobenzonitrilo (219 mg), 5–etil–3,3–dimetilpirrolidin–2,4–diona (120 mg), carbonato de cesio (378 mg), tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0) (71 mg) y 4,5–bis(difenilfosfino)–9,9–dimetilxanteno (89 mg) y de la misma manera que en el Ejemplo de referencia 3, se obtuvo el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 147 mg, 65%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,76 (3H, t, J = 7,5 Hz), 1,34 (3H, s), 1,36 (3H, s), 1,77–1,91 (1H, m), 1,99–2,14 (1H, m), 4,62–4,66 (1H, m), 7,55 (1H, dd, J = 8,5, 2,1 Hz), 7,73 (1H, d, J = 8,5 Hz), 7,84 (1H, d, J = 2,1 Hz).

Ejemplo de referencia 16

4–(5–etil–3,3–dimetil–2,4–dioxopirrolidin–1–il)–2–metoxibenzonitrilo



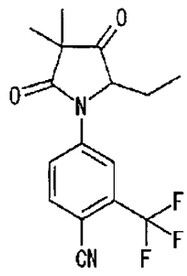
Usando 4–yodo–2–metoxibenzonitrilo (459 mg), 5–etil–3,3–dimetilpirrolidin–2,4–diona (250 mg), carbonato de cesio (787 mg), tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0) (148 mg) y 4,5–bis(difenilfosfino)–9,9–dimetilxanteno (186 mg) y de la misma manera que en el Ejemplo de referencia 3, se obtuvo el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 300 mg, 65%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,78 (3H, t, J = 7,5 Hz), 1,34 (3H, s), 1,36

(3H, s), 1,79–1,95 (1H, m), 1,97–2,13 (1H, m), 3,97 (3H, s), 4,63–4,68 (1H, m), 6,90 (1H, dd, J = 8,5, 1,9 Hz), 7,57–7,62 (2H, m).

Ejemplo de referencia 17

4–(5–etil–3,3–dimetil–2,4–dioxopirrolidin–1–il)–2–(trifluorometil)benzonitrilo

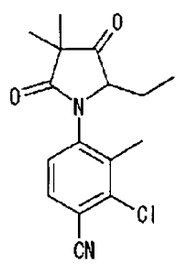


Usando 4–yodo–2–(trifluorometil)benzonitrilo (526 mg), 5–etil–3,3–dimetilpirrolidin–2,4–diona (250 mg), carbonato de cesio (787 mg), tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0) (148 mg) y 4,5–bis(difenilfosfino)–9,9–dimetilxanteno (186 mg) y de la misma manera que en el Ejemplo de referencia 3, se obtuvo el compuesto del título en forma de un aceite de color amarillo claro (rendimiento: 298 mg, 57%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,77 (3H, t, J = 7,4 Hz), 1,36 (3H, s), 1,38 (3H, s), 1,77–1,93 (1H, m), 2,02–2,17 (1H, m), 4,71 (1H, dd, J = 6,1, 2,7 Hz), 7,86 (1H, dd, J = 8,4, 1,9 Hz), 7,91 (1H, d, J = 8,4 Hz), 8,08 (1H, d, J = 1,9 Hz).

Ejemplo de referencia 18

2–cloro–4–(5–etil–3,3–dimetil–2,4–dioxopirrolidin–1–il)–3–metilbenzonitrilo



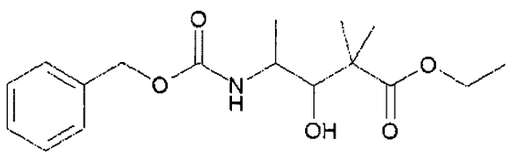
Una solución de 2–cloro–4–yodo–3–metilbenzonitrilo (983 mg), 5–etil–3,3–dimetilpirrolidin–2,4–diona (550 mg), carbonato de cesio (1,73 g), tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0) (325 mg) y 4,5–

bis(difenilfosfino)–9,9–dimetilxanteno (615 mg) en dioxano se hizo reaccionar en un reactor de microondas a 120 °C durante 5 h. Se agregó agua a la mezcla de reacción y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se lavó con salmuera saturada, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice y se recristalizó en THF/hexano para dar el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 294 mg, 27%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,78–0,95 (3H, m), 1,31–1,42 (6H, m), 1,49–1,95 (2H, m), 2,32 (3H, s), 4,18–4,57 (1H, m), 7,15–7,39 (1H, m), 7,62 (1H, d, J = 8,1 Hz).

Ejemplo de referencia 19

4–{[(benciloxi)carbonil]amino}–2,2–dimetil–3–hidroxipentanoato de etilo

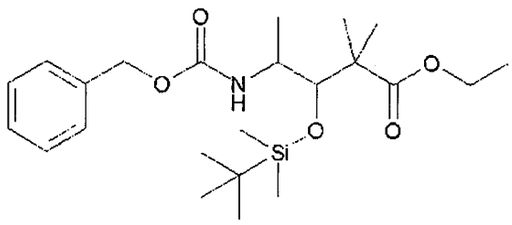


A una solución de 4–{[(benciloxi)carbonil]amino}–2,2–dimetil–3–oxopentanoato de etilo (5,76 g) en metanol (100 mL) se añadió borhidruro de sodio (940 mg) a 0 °C y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 17 h. Se añadió solución acuosa saturada de cloruro de amonio a la mezcla de reacción y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se lavó con salmuera saturada, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/acetato de etilo = 50/1→1/3) para dar el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 4,26 g, 74%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,01 (3H, d, J = 6,8 Hz), 1,12–1,40 (10H, m), 3,39–3,64 (1H, m), 3,76–4,24 (3H, m), 4,85–5,33 (3H, m), 7,22–7,42 (5H, m).

Ejemplo de referencia 20

4–{[(benciloxi)carbonil]amino}–2,2–dimetil–3–(ter–butildimetilsililoxi)pentanoato de etilo

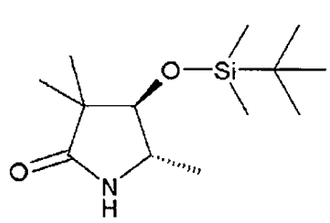


A una solución de 4–{[(benciloxi)carbonil]amino}–2,2–dimetil–3–hidroxipentanoato de etilo (5,7 g) y 2,6–lutidina (2,27 mL) en THF (80 mL) se añadió bajo enfriamiento con hielo trifluorometansulfonato de ter–butildimetilsililo (3,44 mL) y, después de calentar hasta temperatura ambiente, la mezcla se agitó durante 17 h. La mezcla de reacción se añadió al agua y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se lavó con salmuera saturada, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/acetato de etilo = 50/1→2/1) para dar el compuesto del título en forma de un aceite incoloro (rendimiento: 5,42 g, 70%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,03–0,20 (6H, m), 0,88–0,95 (9H, m), 1,06–1,33 (12H, m), 3,73–4,19 (4H, m), 4,55–5,22 (3H, m), 7,26–7,41 (5H, m).

Ejemplo de referencia 21

(4RS,5SR)–4–(ter–butildimetilsililoxi)–3,3,5–trimetilpirrolidin–2–ona



A una solución de 4–{[(benciloxi)carbonil]amino}–2,2–dimetil–3–(ter–butildimetilsililoxi)pentanoato de etilo (2,73 g) en metanol (13 mL) se añadió paladio sobre carbón al 10% (que contiene 50% de agua, 170 mg) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 h bajo una atmósfera de hidrógeno y se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se disolvió en etanol (20 mL). Se añadió una solución al 20% (4 mL) de etóxido de sodio–etanol y la mezcla se calentó a reflujo durante 2 h. Se agregó agua a la mezcla de reacción y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se lavó con salmuera saturada, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/acetato de etilo = 10/1→1/2) para dar el compuesto del título (rendimiento: 700 mg, 44%) y (4RS,5RS)–4–(ter–butildimetilsililoxi)–3,3,5–trimetilpirrolidin–2–ona (rendimiento: 380 mg, 24%), cada una como un aceite.

(4RS,5SR)–4–(ter–butildimetilsililoxi)–3,3,5–trimetilpirrolidin–2–ona

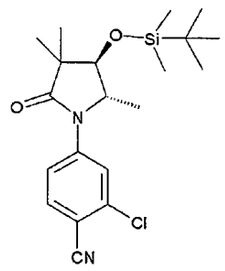
^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,09 (6H, s), 0,90 (9H, s), 1,06 (3H, s), 1,15 (3H, s), 1,25 (3H, d, J = 6,2 Hz), 3,31–3,44 (1H, m), 3,55 (1H, d, J = 6,8 Hz), 5,17–5,42 (1H, m).

(4RS,5RS)–4–(ter–butildimetilsililoxi)–3,3,5–trimetilpirrolidin–2–ona

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,07 (3H, s), 0,08 (3H, s), 0,92 (9H, s), 1,12 (3H, s), 1,15 (3H, s), 1,18 (3H, d, J = 6,8 Hz), 3,69–3,82 (1H, m), 4,00 (1H, d, J = 6,4 Hz), 6,04–6,48 (1H, m).

Ejemplo de referencia 22

rac–2–cloro–4–[(4R,5S)–4–(ter–butildimetilsililoxi)–3,3,5–trimetil–2–oxopirrolidin–1–il]benzonitrilo

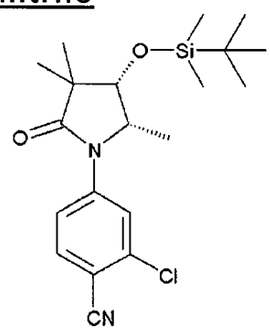


Usando (4RS,5SR)–4–(ter–butildimetilsililoxi)–3,3,5–trimetilpirrolidin–2–ona (105,9 mg), 4–bromo–2–clorobenzonitrilo (89 mg), carbonato de cesio (200 mg), tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0) (20 mg) y 4,5–bis(difenilfosfino)–9,9–dimetilxanteno (25 mg) y de la misma manera que en el Ejemplo de referencia 3, se obtuvo el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 121 mg, 75%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,13–0,16 (6H, m), 1,12 (9H, s), 1,12 (3H, s), 1,28 (3H, s), 1,31 (3H, d, J = 6,1 Hz), 3,72 (1H, d, J = 6,1 Hz), 3,90 (1H, t, J = 6,1 Hz), 7,39 (1H, dd, J = 8,7, 2,1 Hz), 7,59–7,71 (2H, m).

Ejemplo de referencia 23

rac–2–cloro–4–[(4R,5R)–4–(ter–butildimetilsililoxi)–3,3,5–trimetil–2–oxopirrolidin–1–il]benzonitrilo

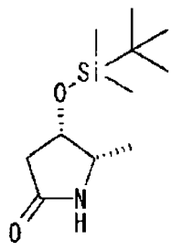


Usando (4RS,5RS)–4–(ter–butildimetilsililoxi)–3,3,5–trimetilpirrolidin–2–ona (380 mg), 4–bromo—2–clorobenzonitrilo (320 mg), carbonato de cesio (722 mg), tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0) (68 mg) y 4,5–bis(difenilfosfino)–9,9–dimetilxanteno (85 mg) y de la misma manera que en el Ejemplo de referencia 3, se obtuvo el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 400 mg, 69%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,13 (3H, s), 0,14 (3H, s), 0,95 (9H, s), 1,21–1,22 (6H, m), 1,28 (3H, d, J = 6,6 Hz), 4,18 (1H, d, J = 7,4 Hz), 4,25–4,37 (1H, m), 7,55–7,68 (2H, m), 7,89 (1H, d, J = 1,9 Hz).

Ejemplo de referencia 24

(4S,5S)–4–(ter–butildimetilsililoxi)–5–metilpirrolidin–2–ona

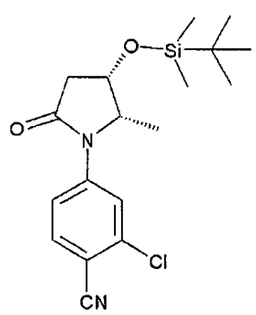


Una solución de (4S,5S)–4–hidroxi–5–metilpirrolidin–2–ona (3,0 g) en THF (50 mL) se enfrió hasta 0 °C, se añadieron 2,6–lutidina (4,55 mL) y trifluorometansulfonato de ter–butildimetilsililo (6,6 mL) y, después de calentar hasta temperatura ambiente, la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 18 h. Se agregó agua a la mezcla de reacción y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se lavó con salmuera saturada, se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/acetato de etilo = 9/1→1/2) para dar el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 4,54 g, 76%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,07 (6H, s), 0,90 (9H, s), 1,17 (3H, d, J = 6,3 Hz), 2,27 (1H, dd, J = 16,5, 4,2 Hz), 2,52 (1H, dd, J = 16,5, 9,3 Hz), 3,70–3,80 (1H, m), 4,37–4,45 (1H, m), 6,00 (1H, br).

Ejemplo de referencia 25

2–cloro–4–[(4S,5S)–4–(ter–butildimetilsililoxi)–5–metil–2–oxopirrolidin–1–il]benzonitrilo

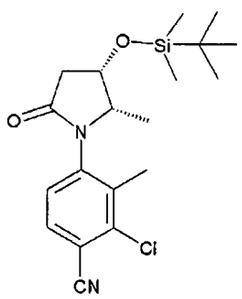


Usando (4S,5S)–4–(ter–butildimetilsililoxi)–5–metilpirrolidin–2–ona (1,06 g), 4–bromo–2–clorobenzonitrilo (1,0 g), carbonato de cesio (2,25 g), tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0) (210 mg) y 4,5–bis(difenilfosfino)–9,9–dimetilxanteno (399 mg) y de la misma manera que en el Ejemplo de referencia 3, se obtuvo el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 1,2 g, 71%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,12 (6H, s), 0,92–0,93 (9H, m), 1,26 (3H, d, J = 6,3 Hz), 2,58–2,80 (2H, m), 4,27–4,36 (1H, m), 4,50–4,60 (1H, m), 7,55 (1H, dd, J = 8,7, 2,1 Hz), 7,64 (1H, d, J = 8,7 Hz), 7,81 (1H, d, J = 2,1 Hz).

Ejemplo de referencia 26

2–cloro–4–[(4S,5S)–4–(ter–butildimetilsililoxi)–5–metil–2–oxopirrolidin–1–il]–3–metilbenzonitrilo



Usando (4S,5S)–4–(ter–butildimetilsililoxi)–5–metilpirrolidin–2–ona (495 mg), 4–bromo–2–cloro–3–metilbenzonitrilo (500 mg), carbonato de cesio (1,05 g), tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0) (99 mg) y 4,5–bis(difenilfosfino)–9,9–dimetilxanteno (124 mg) y de la misma manera que en el Ejemplo de referencia 3, se obtuvo el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 505 mg, 74%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,10–0,13 (6H, m), 0,92 (9H, s), 1,03 (3H, d, J = 6,3 Hz), 2,31 (3H, s), 2,49 (1H, dd, J = 16,8, 2,1 Hz), 2,77 (1H, dd, J = 16,8, 5,1 Hz), 4,00–4,30 (1H, m), 4,40–4,55 (1H, m), 7,07 (1H, d, J = 8,1 Hz), 7,55 (1H, d, J = 8,1 Hz).

Ejemplo de referencia 27

4–[(ter–butoxicarbonil)amino]–2,4,5–trideoxi–2,2–difluoro–L–

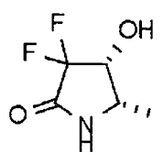
treo–pentonato de etilo

Se disolvieron [(1S)–1–metil–2–oxoetil]carbamato de ter–butilo (7,21 g) y bromodifluoroacetato de etilo (25,1 g) en THF (65 mL) y la solución se añadió gota a gota a una suspensión de cinc en polvo (25,1 g) en THF (14 mL) a temperatura ambiente durante 30 min. La suspensión se calentó a reflujo durante 30 min y se enfrió hasta 0 °C. Una solución acuosa de ácido clorhídrico 1 mol/L (200 mL) se añadió y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (100 mL). La capa orgánica extraída se lavó con agua (100 mL) y salmuera saturada (100 mL), se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: acetato de etilo/hexano = 1/10→3/10) para dar el compuesto del título en forma de un aceite de color amarillo claro (rendimiento: 5,45 g, 44%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,33 (3H, d, J = 7,2 Hz), 1,36 (3H, t, J = 7,1 Hz), 1,44 (9H, s), 3,83–4,07 (2H, m), 4,35 (2H, q, J = 7,1 Hz), 4,80 (1H, brs).

Ejemplo de referencia 28

(4R,5S)–3,3–difluoro–4–hidroxi–5–metilpirrolidin–2–ona



Se disolvió 4–[(ter–butoxicarbonil)amino]–2,4,5–trideoxi–2,2–difluoro–L–treo–pentonato de etilo (5,45 g) en una solución 4 mol/L (100 mL) de cloruro de hidrógeno/acetato de etilo y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1,5 h. La solución de reacción se concentró a presión reducida, se añadieron THF (200 mL) y

diisopropiletilamina (9,9 mL) y la mezcla se calentó a reflujo durante 3 h. La solución de reacción se concentró a presión reducida y se agregó agua (50 mL) al residuo. La mezcla se extrajo con acetato de etilo (100 mL×5) y acetato de etilo/THF = 2/1 (100 mL×3). El extracto se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se lavó con éter diisopropílico para dar el compuesto del título en forma de un polvo blanco (rendimiento: 1,55 g, 46%).

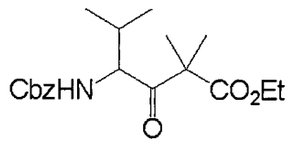
^{1}H–RMN (CD_3SOCD_3) δ: 1,07 (3H, d, J = 6,4 Hz), 3,56–3,85 (1H, m), 4,10–4,40 (1H, m), 6,12 (1H, d, J = 5,9 Hz), 8,86 (1H, brs).

IR (KBr): 3470, 3250, 1721, 1598 cm^{-1}.

Punto de fusión: 139–142 °C.

Ejemplo de referencia 29

4–{[(benciloxi)carbonil]amino}–2,2,5–trimetil–3–oxohexanoato de etilo



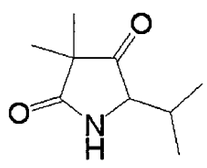
A una solución de N–[(benciloxi)carbonil]–L–valina (25,0 g) en THF seco (100 mL) se añadió 1,1'–carbonilbis–1H–imidazol (19,4 g) a 0 °C en pequeñas porciones y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche (solución 1). A una solución de diisopropilamina (30,2 g) en THF seco (330 mL) se añadió gota a gota una solución 1,6 mol/L de n–butil–litio–hexano (186,5 mL) bajo una atmósfera de argón a –78 °C y la mezcla se agitó durante 30 min y una solución de acetato de etilo (29,2 mL) en THF seco (100 mL) se añadió gota a gota. La mezcla se agitó a –78 °C durante 30 min y se añadió la solución 1 gota a gota y, después de completar la adición gota a gota, la mezcla se agitó a –78 °C durante 1 h. Se agregó ácido acético (25 mL) a la mezcla de reacción y la mezcla se calentó hasta temperatura ambiente. Se agregó agua y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se lavó con salmuera

saturada, se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró a presión reducida. El residuo obtenido se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano–acetato de etilo = 50:1→1:1) para dar 4–{[(benciloxi)carbonil]amino}–5–metil–3–oxohexanoato de etilo en forma de un aceite incoloro (rendimiento: 24,0 g, 75%). A una solución (150 mL) de 4–{[(benciloxi)carbonil]amino}–5–metil–3–oxohexanoato de etilo (12,0 g) en acetona se añadieron carbonato de potasio (10,3 g) y yodometano (7,0 mL) y la mezcla se calentó a reflujo durante la noche. Después de llegar a temperatura ambiente, se añadió agua y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se lavó con salmuera saturada, se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró a presión reducida. El residuo obtenido se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano–acetato de etilo = 50:1→1:1) para dar el compuesto del título en forma de un aceite incoloro (rendimiento: 7,35 g, 56%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,78 (3H, d, J = 6,8 Hz), 0,96 (3H, d, J = 6,8 Hz), 1,22 (3H, t, J = 7,1 Hz), 1,41 (3H, s), 1,43 (3H, s), 2,09–2,22 (1H, m), 4,04–4,22 (2H, m), 4,66 (1H, dd, J = 9,8, 4,0 Hz), 5,07–5,23 (3H, m), 7,30–7,39 (5H, m).

Ejemplo de referencia 30

5–isopropil–3,3–dimetilpirrolidin–2,4–diona



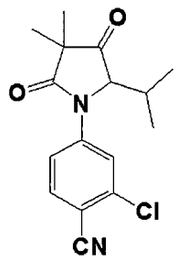
A una solución de 4–{[(benciloxi)carbonil]amino}–2,2,5–trimetil–3–oxohexanoato de etilo (7,2 g) en metanol (80 mL) se le añadió paladio sobre carbón al 10% (que contiene 50% de agua, 3,0 g) y la mezcla se agitó bajo una atmósfera de hidrógeno durante la noche. La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró a presión reducida. El sólido obtenido se lavó con hexano para dar el

compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 2,64 g, 76%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,90 (3H, d, J = 6,8 Hz), 1,04 (3H, d, J = 7,0 Hz), 1,21 (3H, s), 1,25 (3H, s), 2,10–2,27 (1H, m), 3,91 (1H, d, J = 4,3 Hz), 6,50 (1H, brs).

Ejemplo de referencia 31

2–cloro–4–(5–isopropil–3,3–dimetil–2,4–dioxopirrolidin–1–il)benzonitrilo



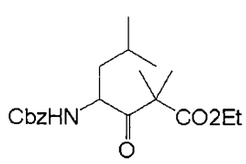
Usando 5–isopropil–3,3–dimetilpirrolidin–2,4–diona (400 mg), 4–bromo–2–clorobenzonitrilo (614 mg), carbonato de cesio (1,16 g), tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0) (216 mg) y 4,5–bis(difenilfosfino)–9,9–dimetilxanteno (410 mg) y de la misma manera que en el Ejemplo de referencia 3, se obtuvo el compuesto del título en forma de cristales incoloros (rendimiento: 343 mg, 48%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,79 (3H, d, J = 7,0 Hz), 1,21 (3H, d, J = 7,2 Hz), 1,32 (3H, s), 1,33 (3H, s), 2,09–2,24 (1H, m), 4,51 (1H, d, J = 3,2 Hz), 7,46–7,51 (1H, m), 7,70–7,75 (1H, m), 7,78–7,81 (1H, m).

Punto de fusión: 116–117 °C.

Ejemplo de referencia 32

4–{[(benciloxi)carbonil]amino}–2,2,6–trimetil–3–oxoheptanoato de etilo



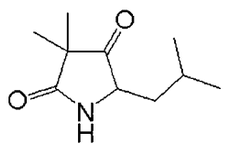
Usando N–[(benciloxi)carbonil]–L–leucina y de la misma manera que en el Ejemplo de referencia 29, se obtuvo el compuesto del título en forma de un aceite incoloro.

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,91 (3H, d, J = 6,8 Hz), 0,96 (3H, d, J =

6,6 Hz), 1,22 (3H, t, J = 7,2 Hz), 1,26–1,38 (2H, m), 1,41 (3H, s), 1,43 (3H, s), 1,62–1,77 (1H, m), 4,07–4,24 (2H, m), 4,74 (1H, td, J = 10,0, 3,7 Hz), 5,01–5,19 (3H, m), 7,28–7,42 (5H, m).

Ejemplo de referencia 33

5–isobutil–3,3–dimetilpirrolidin–2,4–diona

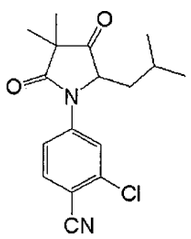


Usando 4–{[(benciloxi)carbonil]amino}–2,2,6–trimetil–3–oxoheptanoato de etilo (5,0 g) y de la misma manera que en el Ejemplo de referencia 30, se obtuvo el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 2,21 g, 87%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,97 (6H, t, J = 6,2 Hz), 1,25 (3H, s), 1,26 (3H, s), 1,34–1,54 (1H, m), 1,67–1,83 (2H, m), 4,01 (1H, dd, J = 9,8, 3,6 Hz), 6,31 (1H, brs).

Ejemplo de referencia 34

2–cloro–4–(5–isobutil–3,3–dimetil–2,4–dioxopirrolidin–1–il)benzonitrilo



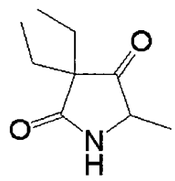
Usando 5–isobutil–3,3–dimetilpirrolidin–2,4–diona (500 mg), 4–bromo–2–clorobenzonitrilo (709 mg), carbonato de cesio (1,33 g), tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0) (125 mg) y 4,5–bis(difenilfosfino)–9,9–dimetilxanteno (237 mg) y de la misma manera que en el Ejemplo de referencia 3, se obtuvo el compuesto del título en forma de un aceite incoloro (rendimiento: 744 mg, 86%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,85 (3H, d, J = 6,6 Hz), 0,96 (3H, d, J = 6,4 Hz), 1,33 (3H, s), 1,40 (3H, s), 1,58–1,91 (3H, m), 4,54–4,60 (1H, m), 7,53 (1H, dd, J = 8,6, 2,1 Hz), 7,72 (1H, d, J = 8,6 Hz), 7,84 (1H,

d, J = 2,1 Hz).

Ejemplo de referencia 35

3,3–dietil–5–metilpirrolidin–2,4–diona



A una solución de 4–{[(benciloxi)carbonil]amino}–3–oxopentanoato de etilo (3,0 g) en acetona (50 mL) se añadieron carbonato de potasio (2,83 g) y yodoetano (2,45 mL) y la mezcla se calentó a reflujo durante la noche. Después de llegar a temperatura ambiente, se añadieron carbonato de potasio (2,83 g) y yodoetano (2,45 mL) y la mezcla se calentó a reflujo durante 1 día. Después de llegar a temperatura ambiente, se añadió agua y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se lavó con salmuera saturada, se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró a presión reducida. El residuo obtenido se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano–acetato de etilo = 20:1→3:2) para dar 4–{[(benciloxi)carbonil]amino}–2,2–dietil–3–oxopentanoato de etilo en forma de un aceite incoloro (rendimiento: 1,91 g, 53%). A una solución de 4–{[(benciloxi)carbonil]amino}–2,2–dietil–3–oxopentanoato de etilo (1,91 g) en metanol (15 mL) se añadió paladio sobre carbón al 10% (que contiene 50% de agua, 1,0 g) y la mezcla se agitó bajo una atmósfera de hidrógeno durante la noche. La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró a presión reducida para dar el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 920 mg, 99%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,80 (3H, t, J = 7,5 Hz), 0,86 (3H, t, J = 7,6 Hz), 1,34 (3H, d, J = 6,8 Hz), 1,68–1,80 (4H, m), 3,88 (1H, q, J = 7,0 Hz), 6,23 (1H, brs).

Ejemplo de referencia 36

2–cloro–4–(3,3–dietil–5–metil–2,4–dioxopirrolidin–1–

il)benzonitrilo

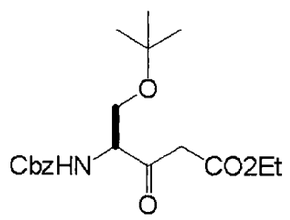
Usando 3,3–dietil–5–metilpirrolidin–2,4–diona (150 mg), 4–bromo–2–clorobenzonitrilo (230 mg), carbonato de cesio (433 mg), tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0) (40,6 mg) y 4,5–bis(difenilfosfino)–9,9–dimetilxanteno (76,9 mg) y de la misma manera que en el Ejemplo de referencia 3, se obtuvo el compuesto del título en forma de cristales incoloros (rendimiento: 101 mg, 37%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,81–0,92 (6H, m), 1,40 (3H, d, J = 7,0 Hz), 1,77–1,93 (4H, m), 4,42 (1H, q, J = 6,9 Hz), 7,54 (1H, dd, J = 8,6, 2,1 Hz), 7,73 (1H, d, J = 8,6 Hz), 7,84 (1H, d, J = 2,1 Hz).

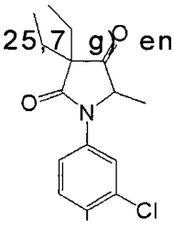
Punto de fusión: 93,5–94,5 °C.

Ejemplo de referencia 37

(4S)–4–{[(benciloxi)carbonil]amino}–5–ter–butoxi–3–oxopentanoato de etilo



A una solución de N–[(benciloxi)carbonil]–O–(ter–butil)–L–serina (25,0 g) en THF seco (100 mL) se añadió 1,1'–carbonilbis–1H–imidazol (16,5 g) a 0 °C en pequeñas porciones y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche (solución 1). A una solución de diisopropilamina (25,7 g) en THF seco (330 mL) se

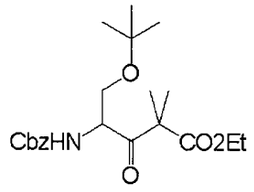


añadió gota a gota a una solución 1,6 mol/L de n–butil–litio–hexano (158,7 mL) bajo una atmósfera de argón a –78 °C. La mezcla se agitó a –78 °C durante 30 min y se añadió una solución de acetato de etilo (24,8 mL) en THF seco (100 mL) gota a gota. Después de completar la adición gota a gota, la mezcla se agitó durante 30 min y la solución 1 se añadió gota a gota. La mezcla se agitó a –78 °C durante 1 h y se agregó ácido acético (25 mL) a la mezcla de reacción. Después de calentar hasta temperatura ambiente, se añadió agua y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se lavó con salmuera saturada, se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró a presión reducida. El residuo obtenido se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano–acetato de etilo = 50:1→1:1) para dar el compuesto del título en forma de un aceite incoloro (rendimiento: 19,2 g, 62%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,14 (9H, s), 1,26 (3H, t, J = 7,1 Hz), 3,48–3,63 (3H, m), 3,85 (1H, dd, J = 9,3, 3,4 Hz), 4,18 (2H, q, J = 7,1 Hz), 4,48–4,55 (1H, m), 5,12 (2H, s), 5,70 (1H, d, J = 7,6 Hz), 7,30–7,40 (5H, m).

Ejemplo de referencia 38

4–{[(benciloxi)carbonil]amino}–5–ter–butoxi–2,2–dimetil–3–oxopentanoato de etilo



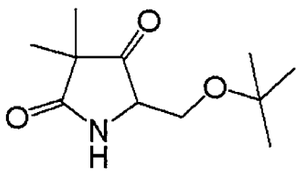
A una solución de (4S)–4–{[(benciloxi)carbonil]amino}–5–ter–butoxi–3–oxopentanoato de etilo (9,0 g) en acetona (120 mL) se añadieron carbonato de potasio (6,81 g) y yodometano (4,6 mL) y la mezcla se calentó a reflujo durante la noche. Después de llegar a temperatura ambiente, se añadió agua y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se lavó con salmuera saturada, se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró a presión reducida. El

residuo obtenido se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano–acetato de etilo → 50:1(1:1) para dar el compuesto del título en forma de un aceite incoloro (rendimiento: 8,83 g, 91%).

1H–RMN ($CDCl_3$) (δ: 1,11 (9H, s), 1,20 (3H, t, J = 7,1 Hz), 1,39 (3H, s), 1,40 (3H, s), 3,46 (1H, dd, J = 8,8, 5,1 Hz), 3,71 (1H, dd, J = 8,8, 3,7 Hz), 3,98–4,18 (2H, m), 4,71–4,81 (1H, m), 5,10 (2H, s), 5,42 (1H, d, J = 9,1 Hz), 7,28–7,39 (5H, m).

Ejemplo de referencia 39

5–(ter–butoximetil)–3,3–dimetilpirrolidin–2,4–diona

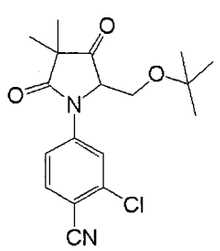


A una solución de 4–{[(benciloxi)carbonil]amino}–5–ter–butoxi–2,2–dimetil–3–oxopentanoato de etilo (8,7 g) en metanol (100 mL) se añadió paladio sobre carbón al 10% (que contenía 50% de agua, 4,0 g) y la mezcla se agitó durante la noche bajo una atmósfera de hidrógeno. La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró a presión reducida. El sólido obtenido se lavó con hexano para dar el compuesto del título en forma de cristales incoloros (rendimiento: 3,81 g, 81%).

1H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,15 (9H, s), 1,24 (3H, s), 1,25 (3H, s), 3,50–3,64 (2H, m), 4,07–4,12 (1H, m), 6,04 (1H, brs).

Ejemplo de referencia 40

4–[5–(ter–butoximetil)–3,3–dimetil–2,4–dioxopirrolidin–1–il]–2–clorobenzonitrilo



Usando 5–(ter–butoximetil)–3,3–dimetilpirrolidin–2,4–diona

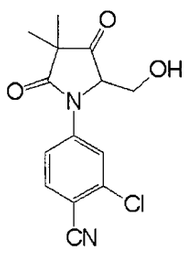
(1,20 g), 4–bromo–2–clorobenzonitrilo (1,46 g), carbonato de cesio (2,75 g), tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0) (258 mg) y 4,5–bis(difenilfosfino)–9,9–dimetilxanteno (488 mg) y de la misma manera que en el Ejemplo de referencia 3, se obtuvo el compuesto del título en forma de cristales incoloros (rendimiento: 1,59 g, 81%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) (δ: 0,98 (9H, s), 1,32 (3H, s), 1,37 (3H, s), 3,55 (1H, dd, J = 9,7, 2,5 Hz), 3,76 (1H, dd, J = 9,7, 1,8 Hz), 4,55–4,58 (1H, m), 7,56 (1H, dd, J = 8,5, 2,0 Hz), 7,71 (1H, d, J = 8,5 Hz), 7,84 (1H, d, J = 2,0 Hz).

Punto de fusión: 124–125 °C

Ejemplo de referencia 41

2–cloro–4–[5–(hidroximetil)–3,3–dimetil–2,4–dioxopirrolidin–1–il]benzonitrilo



A 4–[5–(ter–butoximetil)–3,3–dimetil–2,4–dioxopirrolidin–1–il]–2–clorobenzonitrilo (900 mg) se añadió ácido trifluoroacético (10 mL) a 0 °C y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla de reacción se enfrió hasta 0 °C y se neutralizó con solución saturada de carbonato hidrogenado de sodio. Se agregó agua a la mezcla de reacción y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se lavó con salmuera saturada, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano–acetato de etilo → 4:1(1:4) y se recristalizó en hexano–acetato de etilo para dar el compuesto del título en forma de cristales incoloros (rendimiento: 655 mg, 87%).

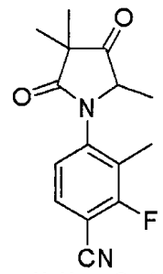
1H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,35 (3H, s), 1,39 (3H, s), 1,75 (1H, t, J = 4,9 Hz), 3,84–3,95 (1H, m), 4,06–4,17 (1H, m), 4,59 (1H, t, J = 2,2

Hz), 7,57 (1H, dd, J = 8,5, 2,1 Hz), 7,73 (1H, d, J = 8,5 Hz), 7,88 (1H, d, J = 2,1 Hz).

Punto de fusión: 150–152 °C.

Ejemplo de referencia 42

2–fluoro–3–metil–4–(3,3,5–trimetil–2,4–dioxopirrolidin–1–il)benzonitrilo

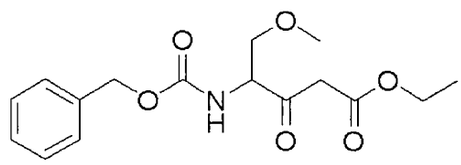


Usando 3,3,5–trimetilpirrolidin–2,4–diona (400 mg), 4–bromo–2–fluoro–3–metilbenzonitrilo (667 mg), carbonato de cesio (1,39 g), tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0) (130 mg) y 4,5–bis(difenilfosfino)–9,9–dimetilxanteno (246 mg) y de la misma manera que en el Ejemplo de referencia 18, se obtuvo el compuesto del título en forma de cristales incoloros (rendimiento: 137 mg, 18%).

1H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,30 (3H, d, J = 6,8 Hz), 1,38 (3H, s), 1,40 (3H, s), 2,19 (3H, d, J = 2,5 Hz), 4,43 (1H, brs), 7,09 (1H, d, J = 8,3 Hz), 7,52–7,61 (1H, m).

Ejemplo de referencia 43

(4S)–4–{[(benciloxi)carbonil]amino}–5–metoxi–3–oxopentanoato de etilo



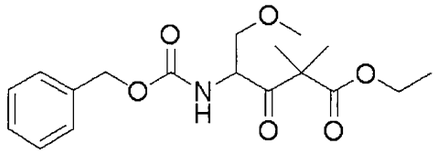
Usando N–[(benciloxi)carbonil]–O–metilserina y de la misma manera que en el Ejemplo de referencia 37, se obtuvo el compuesto del título en forma de un aceite incoloro (rendimiento: 11,1 g, 50%).

1H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,27 (3H, t, J = 7,1 Hz), 3,33 (3H, s), 3,51–3,66 (3H, m), 3,87 (1H, dd, J = 9,8, 3,6 Hz), 4,19 (2H, q, J = 7,1 Hz), 4,51–4,63 (1H, m), 5,13 (2H, s), 5,72 (1H, d, J = 7,4 Hz), 7,29–7,43

(5H, m).

Ejemplo de referencia 44

4–{[(benciloxi)carbonil]amino}–5–metoxi–2,2–dimetil–3–oxopentanoato de etilo

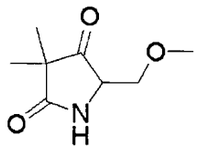


Usando 4–{[(benciloxi)carbonil]amino}–5–metoxi–3–oxopentanoato de etilo (11,0 g), carbonato de potasio (9,40 g) y yodometano (14,5 g, 6,4 mL) y de la misma manera que en el Ejemplo de referencia 38, se obtuvo el compuesto del título en forma de un aceite incoloro (rendimiento: 10,5 g, 88%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,22 (3H, t, J = 7,1 Hz), 1,40 (3H, s), 1,41 (3H, s), 3,29 (3H, s), 3,51 (1H, dd, J = 9,7, 4,6 Hz), 3,68–3,78 (1H, m), 4,02–4,21 (2H, m), 4,77–4,87 (1H, m), 5,11 (2H, s), 5,46 (1H, d, J = 9,1 Hz), 7,29–7,38 (5H, m).

Ejemplo de referencia 45

5–(metoximetil)–3,3–dimetilpirrolidin–2,4–diona

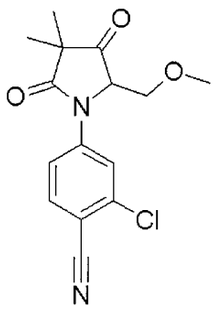


A una solución de 4–{[(benciloxi)carbonil]amino}–5–metoxi–2,2–dimetil–3–oxopentanoato de etilo (10,2 g) en metanol (100 mL) se añadió paladio sobre carbón al 10% (que contiene 50% de agua, 3,1 g) y la mezcla se agitó durante la noche bajo una atmósfera de hidrógeno. Se filtró el paladio sobre carbón y el filtrado se concentró a presión reducida. El sólido obtenido se lavó con hexano para dar el compuesto del título en forma de cristales incoloros (rendimiento: 4,16 g, 84%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,23 (3H, s), 1,26 (3H, s), 3,35 (3H, s), 3,52–3,67 (2H, m), 4,12–4,16 (1H, m), 6,51 (1H, brs).

Ejemplo de referencia 46

2–cloro–4–[5–(metoximetil)–3,3–dimetil–2,4–dioxopirrolidin–1–il]benzonitrilo



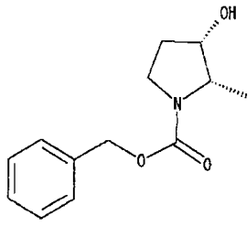
Usando 5–(metoximetil)–3,3–dimetilpirrolidin–2,4–diona (700 mg), 4–bromo–2–clorobenzonitrilo (1,06 g), carbonato de cesio (2,00 g), tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0) (187 mg) y 4,5–bis(difenilfosfino)–9,9–dimetilxanteno (355 mg) y de la misma manera que en el Ejemplo de referencia 3, se obtuvo el compuesto del título en forma de cristales incoloros (rendimiento: 219 mg, 17%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,33 (3H, s), 1,36 (3H, s), 3,21 (3H, s), 3,60 (1H, d, J = 10,2 Hz), 3,78 (1H, d, J = 10,2 Hz), 4,54–4,58 (1H, m), 7,55 (1H, d, J = 8,5 Hz), 7,72 (1H, d, J = 8,3 Hz), 7,85 (1H, s).

Punto de fusión: 98–99 °C.

Ejemplo de referencia 47

(2S,3S)–3–hidroxi–2–metilpirrolidin–1–carboxilato de bencilo



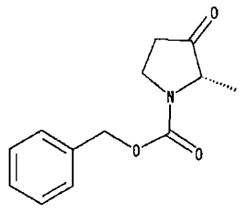
A una suspensión de (4S,5S)–4–hidroxi–5–metilpirrolidin–2–ona (10,45 g) en THF seco (418 mL) se añadió gota a gota Red–Al (104,9 g: 363 mmol: solución toluénica al 70%) bajo enfriamiento con hielo y una corriente de nitrógeno. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 20 min y luego se calentó a reflujo durante 3 h. La mezcla de reacción se volvió a enfriar con hielo y se agregó carbonato de sodio decahidratado (41,6 g) bajo una corriente de

nitrógeno. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche, se filtraron los materiales insolubles a través de celite y se lavaron con THF. El filtrado y el lavado se combinaron y se concentraron a presión reducida para dar (2S,3S)–3–hidroxi–2–metilpirrolidina. Sin ulterior purificación, este compuesto se diluyó con DMSO para dar solución de 0,9 mol/L–DMSO. Una solución (170 mL) de (2S,3S)–3–hidroxi–2–metilpirrolidina en 0,9 mol/L–DMSO se diluyó con agua (200 mL), se añadieron carbonato hidrogenado de sodio (24,6 g) y cloroformiato de bencilo (15 mL) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 18 h. Se agregó agua a la mezcla de reacción y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se lavó con salmuera saturada, se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró a presión reducida para dar el compuesto del título en forma de un aceite de color amarillo claro (rendimiento: 20,64 g, 84%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,10–1,30 (3H, br), 1,60–2,20 (3H, m), 3,40–4,40 (5H, m), 7,20–7,40 (5H, m).

Ejemplo de referencia 48

(2S)–2–metil–3–oxopirrolidin–1–carboxilato de bencilo



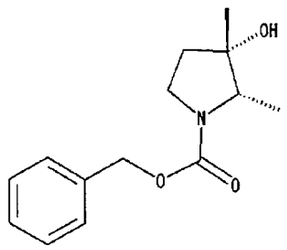
A una solución de (2S,3S)–3–hidroxi–2–metilpirrolidin–1–carboxilato de bencilo (20,5 g) en acetonitrilo (150 mL) se le añadieron tamices moleculares en polvo 4A (25 g) y N–óxido de 4–metilmorfolina (20,4 g). Después de enfriar hasta 0 °C, se añadió perrutenato de tetra–n–propilamonio (3,0 g) y la mezcla se agitó a 0 °C durante 1 h y a temperatura ambiente durante 18 h. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida y el residuo se suspendió en acetato de etilo. Los materiales insolubles se filtraron a través de Hyflo Super–Cel. El filtrado se concentró a presión reducida y el

residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/acetato de etilo = 9/1→2/1) para dar el compuesto del título en forma de un aceite incoloro (rendimiento: 18,0 g, 89%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,34 (3H, d, J = 6,6 Hz), 2,50–2,70 (2H, m), 3,60–3,75 (1H, m), 3,90–4,10 (2H, m), 5,15 (1H, d, J = 12,3 Hz), 5,20 (1H, d, J = 12,3 Hz), 7,30–7,40 (5H, m).

Ejemplo de referencia 49

(2S,3S)–3–hidroxi–2,3–dimetilpirrolidin–1–carboxilato de bencilo

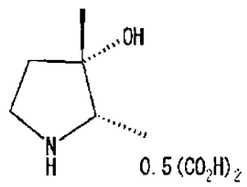


Una suspensión de cloruro de cerio (47 g) en THF (300 mL) se enfrió hasta –78 °C, solución de bromuro de metilmagnesio–éter dietílico (56 mL, 3 mol/L) se añadió gota a gota mientras se ajustaba la temperatura de la solución en –70 °C o menos. Después de completar la adición gota a gota, la mezcla se agitó a –78 °C durante 30 min, una solución de (2S)–2–metil–3–oxopirrolidin–1–carboxilato de bencilo (18 g) en THF (60 mL) se añadió gota a gota mientras se ajustaba la temperatura de la solución en –70 °C o menos. La mezcla de reacción se calentó hasta 0 °C durante 2 h, se añadió acetato de etilo (1 L) y se filtraron los materiales insolubles. El filtrado se dividió con agua y la capa orgánica se lavó con salmuera saturada, se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/acetato de etilo = 9/1→1/1) para dar el compuesto del título en forma de un aceite incoloro (rendimiento: 16,2 g, 84%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,10–1,35 (3H, br), 1,34 (3H, s), 1,47 (1H, s), 1,75–1,90 (1H, m), 1,91–2,00 (1H, m), 3,49 (2H, t, J = 7,2 Hz), 3,55–3,65 (1H, m), 5,05–5,20 (2H, m), 7,20–7,40 (5H, m).

Ejemplo de referencia 50

Sal de ácido oxálico 0,5 de (2S,3S)–2,3–dimetilpirrolidin–3–ol

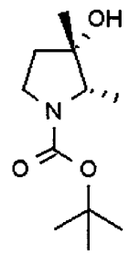


A una solución de (2S,3S)–3–hidroxi–2,3–dimetilpirrolidin–1–carboxilato de bencilo (16,1 g) en metanol (200 mL) se añadió Pd/C al 10% con el 50% de agua (0,4 g) y la mezcla se agitó vigorosamente bajo una atmósfera de hidrógeno. El catalizador se filtró, se añadió ácido oxálico (2,90 g) al filtrado y la mezcla se concentró a presión reducida. El sólido residual se suspendió en acetato de etilo y se filtró para dar el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 9,09 g, 88%).

^{1}H–RMN (DMSO–d6) δ: 1,05 (3H, d, J = 6,6 Hz), 1,18 (3H, s), 1,74–1,86 (2H, m), 2,80–2,95 (2H, m), 2,98–3,10 (1H, m), 4,00–5,20 (3H, m).

Ejemplo de referencia 51

(2S,3S)–3–hidroxi–2,3–dimetilpirrolidin–1–carboxilato de ter–butilo



A una solución de sal de ácido oxálico 0,5 de (2S,3S)–2,3–dimetilpirrolidin–3–ol (3,31 g) en THF (50 mL) se añadieron sucesivamente 1 mol/L de solución acuosa de hidróxido de sodio (40 mL) y una solución de dicarbonato de di–ter–butilo (5,42 g) en THF (10 mL). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 20 h, se agregó agua (50 mL) a la mezcla de reacción y la mezcla se extrajo con acetato de etilo dos veces. El extracto se lavó con salmuera saturada, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró

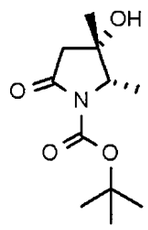
a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: acetato de etilo/hexano = 1/10→4/10) para dar el compuesto del título en forma de un polvo blanco (rendimiento: 3,21 g, 72%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,21 (3H, d, J = 6,4 Hz), 1,33 (3H, s), 1,46 (9H, s), 1,66 (1H, s), 1,73–1,85 (1H, m), 1,86–1,98 (1H, m), 3,40 (2H, dd, J = 7,2, 6,7 Hz), 3,46–3,57 (1H, m).

Punto de fusión: 109–112 °C.

Ejemplo de referencia 52

(2S,3S)–3–hidroxi–2,3–dimetil–5–oxo–pirrolidin–1–carboxilato de ter–butilo



A una solución de (2S,3S)–3–hidroxi–2,3–dimetilpirrolidin–1–carboxilato de ter–butilo (3,05 g) en acetato de etilo (45 mL) se añadieron sucesivamente agua (68 mL), dióxido de rutenio monohidratado (566 mg) y peryodato de sodio (4,57 g) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 40 h, la capa orgánica y la capa acuosa se separaron y la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo. Las capas orgánicas obtenidas se mezclaron, se añadió isopropanol (0,7 mL) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 5 min. La solución de reacción se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: acetato de etilo/hexano = 1/10→4/10) para dar el compuesto del título en forma de un polvo blanco (rendimiento: 1,11 g, 34%).

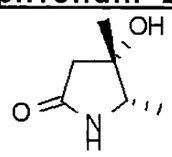
^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,34 (3H, d, J = 6,4 Hz), 1,46 (3H, s), 1,54 (9H, s), 1,72 (1H, s), 2,47 (1H, d, J = 17,0 Hz), 2,73 (1H, d, J = 17,0

Hz), 3,91 (1H, q, J = 6,4 Hz).

Punto de fusión: 122–125 °C.

Ejemplo de referencia 53

(4S,5S)–4–hidroxi–4,5–dimetilpirrolidin–2–ona



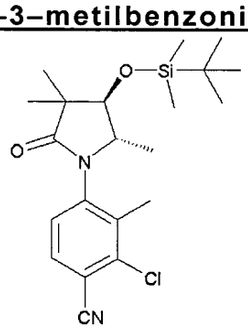
(2S,3S)–3–hidroxi–2,3–dimetil–5–oxo–pirrolidin–1–carboxilato de ter–butilo (1,00 g) se disolvió en solución de cloruro de hidrógeno–acetato de etilo (10 mL, 4 mol/L) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 14 h. La solución de reacción se concentró a presión reducida y se recristalizó en isopropanol/n–hexano para dar el compuesto del título (309 mg, 55%) en forma de cristales incoloros. Por otra parte, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: acetato de etilo(metanol/acetato de etilo = 1/10) y el sólido obtenido se cristalizó en éter diisopropílico para dar el compuesto del título (220 mg, 39%) en forma de un polvo blanco.

^{1}H–RMN (DMSO–d6) δ: 1,00 (3H, d, J = 6,4 Hz), 1,20 (3H, s), 2,06 (1H, d, J = 16,2 Hz), 2,23 (1H, d, J = 16,2 Hz), 3,33 (1H, q, J = 6,4 Hz), 4,70 (1H, brs), 7,48 (1H, brs).

Punto de fusión: 169–173 °C.

Ejemplo de referencia 54

rac–4–((4R,5S)–4–(ter–butildimetilsililoxi)–3,3,5–trimetil–2–oxopirrolidin–1–il)–2–cloro–3–metilbenzonitrilo



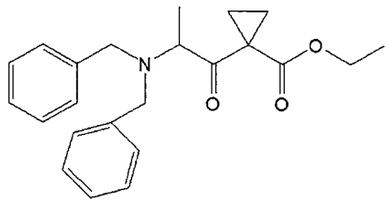
Usando (4RS,5SR)–4–(ter–butildimetilsililoxi)–3,3,5–trimetilpirrolidin–2–ona (200 mg), 2–cloro–4–yodo–3–

metilbenzonitrilo (250 mg), carbonato de cesio (380 mg), tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0) (36 mg) y 4,5–bis(difenilfosfino)–9,9–dimetilxanteno (45 mg) y de la misma manera que en el Ejemplo de referencia 3, se obtuvo el compuesto del título en forma de un aceite de color amarillo claro (rendimiento: 103 mg, rendimiento: 33,7%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,13 (3H, s), 0,15 (3H, s), 0,94 (9H, s), 1,04–1,36 (9H, m), 2,26 (3H, s), 3,60–3,91 (2H, m), 7,01–7,17 (1H, m), 7,50–7,60 (1H, m).

Ejemplo de referencia 55

1–[2–(dibencilamino)propanoil]ciclopropancarboxilato de etilo

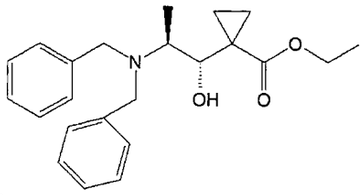


Una solución de (4S)–4–(dibencilamino)–3–oxopentanoato de etilo (500 mg) sintetizada de acuerdo con el método descrito en Journal of Organic Chemistry, vol. 62, pp. 2292–2297 (1997), 1,2–dibromoetano (0,19 mL) y carbonato de potasio (405 mg) en acetona (15 mL), se agitó a reflujo durante la noche. La mezcla de reacción se añadió al agua y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se lavó con salmuera saturada, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/acetato de etilo = 1/0→2/1) para dar el compuesto del título en forma de un aceite incoloro (rendimiento: 231,4 mg, 43,0%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,01 (3H, t, J = 7,2 Hz), 1,07–1,19 (2H, m), 1,20 (3H, d, J = 6,8 Hz), 1,58–1,73 (2H, m), 3,56 (2H, d, J = 14,0 Hz), 3,61 (2H, d, J = 14,0 Hz), 3,72 (1H, 10,8, 7,2 Hz), 3,96 (1H, dq, J = 10,8, 7,2 Hz), 4,40 (1H, q, J = 6,8 Hz), 7,19–7,27 (2H, m), 7,27–7,39 (8H, m).

Ejemplo de referencia 56

1–[(1RS,2RS)–2–(dibencilamino)–1–hidroxipropil]ciclopropan carboxilato de etilo

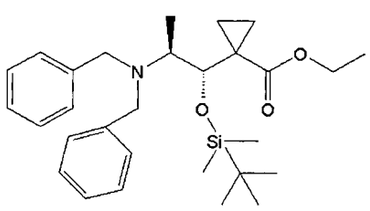


Una solución de 1–[2–(dibencilamino) propanoil]ciclopropancarboxilato de etilo (1,31 g) en metanol (60 mL) se enfrió hasta 0 °C, se le añadió borhidruro de sodio al 90% (350 mg) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 17 h. Se agregó agua a la mezcla de reacción y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se lavó con salmuera saturada, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/acetato de etilo = 1/0→1/1) para dar el compuesto del título en forma de un aceite incoloro (rendimiento: 1,31 g, 99%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,53–0,66 (1H, m), 0,95–1,09 (2H, m), 1,05 (3H, d, J = 6,7 Hz), 1,06 (3H, t, J = 7,1 Hz), 1,14–1,22 (1H, m), 3,03 (1H, dq, J = 9,6, 6,7 Hz), 3,33 (2H, d, J = 13,2 Hz), 3,60 (1H, d, J = 9,6 Hz), 3,83 (2H, d, J = 13,2 Hz), 3,96 (1H, q, J = 7,1 Hz), 3,97 (1H, q, J = 7,1 Hz), 4,20 (1H, brs), 7,17–7,38 (10H, m).

Ejemplo de referencia 57

1–[(1RS,2RS)–1–(ter–butildimetilsililoxi)–2–(dibencilamino)propil]ciclopropancarboxilato de etilo



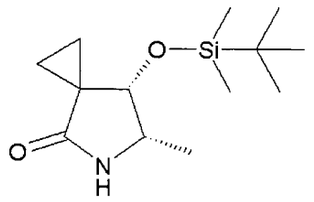
Una solución de 1–[(1RS,2RS)–2–(dibencilamino)–1–hidroxipropil]ciclopropancarboxilato de etilo (1,30 g) en THF (15 mL) se enfrió hasta 0 °C, se añadieron trifluorometansulfonato de ter–

butil(dimetil)sililo (0,98 mL) y 2,6–dimetilpiridina (0,621 mL) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 17 h. Se agregó agua a la mezcla de reacción y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se lavó con salmuera saturada, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/acetato de etilo = 1/0→4/1) para dar el compuesto del título en forma de un aceite incoloro (rendimiento: 1,30 g, 76%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,04 (3H, s), 0,11 (3H, s), 0,81–1,36 (4H, m), 0,88 (9H, s), 1,03 (3H, t, J = 7,1 Hz), 1,11 (3H, d, J = 7,0 Hz), 3,19 (1H, dd, J = 6,9,4,4 Hz), 3,40 (2H, d, J = 14,0 Hz), 3,80 (2H, q, J = 7,1 Hz), 4,02 (2H, d, J = 14,0 Hz), 4,06–4,17 (1H, m), 7,10–7,42 (10H, m).

Ejemplo de referencia 58

(6RS,7RS)–7–(ter–butildimetilsililoxi)–6–metil–5–azaespiro[2.4]heptan–4–ona



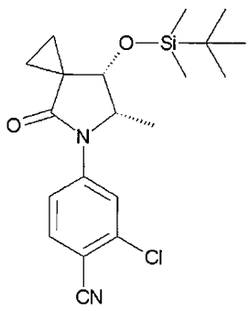
A una solución de 1–[(1RS,2RS)–1–(ter–butildimetilsililoxi)–2–(dibencilamino)propil]ciclopropancarboxilato de etilo (1,36 g) en metanol (16 mL) se le añadió hidróxido de paladio sobre carbón al 10% (que contenía 50% de agua, 280 mg) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 18 h bajo una atmósfera de hidrógeno. La mezcla de reacción se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/acetato de etilo = 10/1(1/4) para dar el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 164 mg, rendimiento: 22,8%).

1H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,02 (3H, s), 0,05 (3H, s), 0,61–0,71 (1H,

m), 0,85–1,21 (3H, m), 0,90 (9H, s), 1,17 (3H, d, J = 6,6 Hz), 3,75–3,88 (1H, m), 4,43 (1H, d, J = 6,8 Hz), 5,45 (1H, brs).

Ejemplo de referencia 59

rac–4–((6R,7R)–7–(ter–butildimetilsililoxi)–6–metil–4–oxo–5–azaespiro[2.4]hept–5–il)–2–clorobenzonitrilo

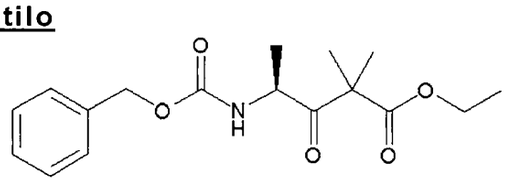


Usando (6RS,7RS)–7–(ter–butildimetilsililoxi)–6–metil–5–azaespiro[2.4]heptan–4–ona (162 mg), 4–bromo–2–clorobenzonitrilo (157 mg), carbonato de cesio (310 mg), tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0) (30 mg) y 4,5–bis(difenilfosfino)–9,9–dimetilxanteno (75 mg) y de la misma manera que en el Ejemplo de referencia 3, se obtuvo el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 140 mg, 56%).

1H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,07 (3H, s), 0,12 (3H, s), 0,67–0,79 (1H, m), 0,88–1,37 (3H, m), 0,93 (9H, s), 1,30 (3H, d, J = 6,4 Hz), 4,29–4,41 (1H, m), 4,59 (1H, d, J = 7,2 Hz), 7,01–8,04 (3H, m).

Ejemplo de referencia 60

(4S)–4–{[(benciloxi)carbonil]amino}–2,2–dimetil–3–oxopentanoato de etilo



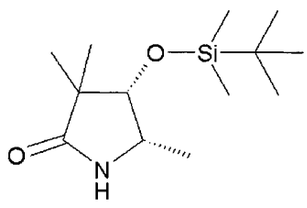
Una solución de diisopropilamina (0,665 mL) en THF (25 mL) se enfrió hasta –78 °C y se añadió solución de n–butil–litio–hexano (2,93 mL, 1,6 mol/L) gota a gota. Después de completar la adición gota a gota, la mezcla se agitó a –78 °C durante 1 h. Posteriormente, se agregó 2–metilpropanoato de etilo (0,675 mL) gota a gota y la mezcla luego se agitó a –78 °C durante 1 h. Una solución de (4S)–4–

metil–2,5–dioxo–1,3–oxazolidin–3–carboxilato de bencilo (900 mg) en THF (5,0 mL) se añadió gota a gota a –78 °C y la mezcla luego se agitó a –78 °C durante 20 min. Se agregó ácido acético (2,0 mL) a la mezcla de reacción y, después de calentar hasta temperatura ambiente, se añadió agua y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se lavó con salmuera saturada, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/acetato de etilo = 1/0→1/1) para dar el compuesto del título en forma de un aceite incoloro (rendimiento: 905 mg, rendimiento: 78,0%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,22 (3H, t, J = 7,2 Hz), 1,31 (3H, d, J = 6,8 Hz), 1,41 (3H, s), 1,43 (3Hs), 4,06–4,22 (2H, m), 4,74 (1H, dd, J = 8,5, 7,2 Hz), 5,02–5,17 (2H, m), 5,23–5,37 (1H, m), 7,28–7,46 (5H, m).

Ejemplo de referencia 61

(4S,5S)–4–(ter–butildimetilsililoxi)–3,3,5–trimetilpirrolidin–2–ona



Una solución de (4S)–4–{[(benciloxi)carbonil]amino}–2,2–dimetil–3–oxopentanoato de etilo (905 mg) en metanol (30 mL) se enfrió hasta 0 °C, se añadió borhidruro de sodio al 90% (180 mg) y la mezcla se agitó a 0 °C durante 2 h. Se añadió solución acuosa saturada de cloruro de amonio a la mezcla de reacción y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se lavó con salmuera saturada, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/acetato de etilo = 30/1→1/3) para dar (4S)–4–{[(benciloxi)carbonil]amino}–2,2–dimetil–

3–hidroxipentanoato de etilo en forma de un aceite incoloro (rendimiento: 720 mg, 79%).

Una solución de (4S)–4–{[(benciloxi)carbonil]amino}–2,2–dimetil–3–hidroxipentanoato de etilo (720 mg) en THF (20 mL) se enfrió hasta 0 °C, se le añadieron trifluorometansulfonato de ter–butil(dimetil)sililo (0,589 mL) y 2,6–dimetilpiridina (0,390 mL) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. Se agregó agua a la mezcla de reacción y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se lavó con salmuera saturada, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/acetato de etilo = 1/0→1/1) para dar (4S)–4–{[(benciloxi)carbonil]amino}–3–(ter–butildimetilsililoxi)–2,2–dimetilpentanoato de etilo en forma de un aceite incoloro (rendimiento: 0,916 g, 94%).

A una solución de (4S)–4–{[(benciloxi)carbonil]amino}–3–(ter–butildimetilsililoxi)–2,2–dimetilpentanoato de etilo (0,916 g) en metanol (20 mL) se añadió paladio sobre carbón al 10% (que contiene 50% de agua, 89 mg) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 16 h bajo una atmósfera de hidrógeno y se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se disolvió en THF (15 mL). Se agregó diisopropiletilamina (1,5 mL) y la mezcla se calentó a reflujo durante 3 h. Se agregó agua a la mezcla de reacción y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/acetato de etilo = 30/1→1/3) para dar el compuesto del título (rendimiento: 161,8 mg, rendimiento: 30,1%) y (4R,5S)–4–(ter–butildimetilsililoxi)–3,3,5–trimetilpirrolidin–2–ona (rendimiento: 289 mg, rendimiento: 53,7%), cada una en forma de un sólido incoloro.

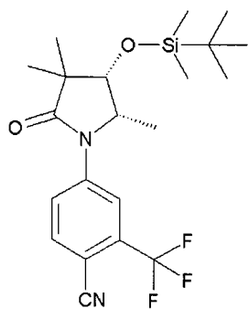
1H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,07 (6H, s), 0,90 (9H, s), 1,17 (3H, d, J = 6,3 Hz), 2,27 (1H, dd, J = 16,5, 4,2 Hz), 2,25 (1H, dd, J = 16,5, 9,3 Hz), 3,70–3,80 (1H, m), 4,37–4,45 (1H, m), 6,00 (1H, brs).

(4R,5S)–4–(ter–butildimetilsililoxi)–3,3,5–trimetilpirrolidin–2–ona

1H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,09 (6H, s), 0,90 (9H, s), 1,06 (3H, s), 1,15 (3H, s), 1,25 (3H, d, J = 6,2 Hz), 3,31–3,44 (1H, m), 3,55 (1H, d, J = 6,8 Hz), 5,17–5,42 (1H, m).

Ejemplo de referencia 62

4–((4S,5S)–4–(ter–butildimetilsililoxi)–3,3,5–trimetil–2–oxopirrolidin–1–il)–2–(trifluorometil)benzonitrilo

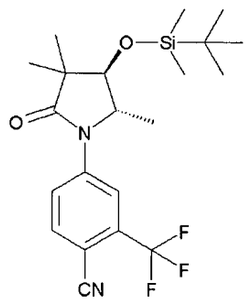


Usando (4S,5S)–4–(ter–butildimetilsililoxi)–3,3,5–trimetilpirrolidin–2–ona (161,8 mg), 4–yodo–2–(trifluorometil)benzonitrilo (205 mg), carbonato de cesio (307 mg), tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0) (30 mg) y 4,5–bis(difenilfosfino)–9,9–dimetilxanteno (73 mg) y de la misma manera que en el Ejemplo de referencia 3, se obtuvo el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 232,2 mg, rendimiento: 87%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,14 (3H, s), 0,15 (3H, s), 0,96 (9H, s), 1,23 (3H, s), 1,24 (3H, s), 1,30 (3H, d, J = 6,6 Hz), 4,20 (1H, d, J = 7,4 Hz), 4,30–4,44 (1H, m), 7,77–7,93 (2H, m), 8,16 (1H, d, J = 2,1 Hz).

Ejemplo de referencia 63

4–[(4R,5S)–4–(ter–butildimetilsililoxi)–3,3,5–trimetil–2–oxopirrolidin–1–il]–2–(trifluorometil)benzonitrilo

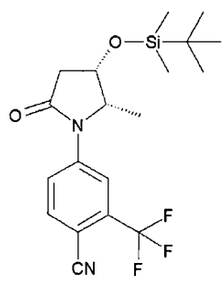


Usando (4R,5S)–4–(ter–butildimetilsililoxi)–3,3,5–trimetilpirrolidin–2–ona (266,6 mg), 4–yodo–2–(trifluorometil)benzonitrilo (340 mg), carbonato de cesio (505 mg), tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0) (47 mg) y 4,5–bis(difenilfosfino)–9,9–dimetilxanteno (120 mg) y de la misma manera que en el Ejemplo de referencia 3, se obtuvo el compuesto del título en forma de un aceite incoloro (rendimiento: 391,7 mg, rendimiento: 89%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,15 (6H, s), 0,95 (9H, s), 1,13 (3H, s), 1,30 (3H, s), 1,31 (3H, d, J = 6,2 Hz), 3,75 (1H, d, J = 6,2 Hz), 3,89–4,02 (1H, m), 7,58–7,74 (1H, m), 7,80–7,93 (2H, m).

Ejemplo de referencia 64

4–[(2S,3S)–3–(ter–butildimetilsililoxi)–2–metil–5–oxopirrolidin–1–il]–2–(trifluorometil)benzonitrilo



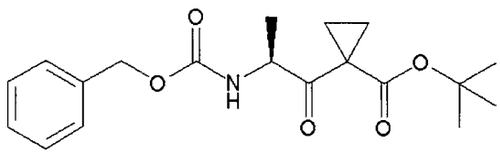
Usando (4S,5S)–4–(ter–butildimetilsililoxi)–5–metilpirrolidin–2–ona (5,00 g), 4–yodo–2–(trifluorometil)benzonitrilo (6,80 g),

carbonato de cesio (10,65 g), tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0) (1,00 g) y 4,5–bis(difenilfosfino)–9,9–dimetilxanteno (2,52 g) y de la misma manera que en el Ejemplo de referencia 3, se obtuvo el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 5,617 g, rendimiento: 64,7%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,13 (6H, s), 0,93 (9H, s), 1,28 (3H, d, J = 6,4 Hz), 2,65 (1H, dd, J = 17,0, 7,0 Hz), 2,76 (1H, dd, J = 17,0,7,0 Hz), 4,30–4,44 (1H, m), 4,57 (1H, q, J = 7,0 Hz), 7,82 (1H, d, J = 8,7 Hz), 7,89 (1H, dd, J = 8,7, 2,1 Hz, 1H), 8,04 (1H, d, J = 2,1 Hz).

Ejemplo de referencia 65

1–((2S)–2–{[(benciloxi)carbonil]amino}propanoil) ciclopropancarboxilato de ter–butilo



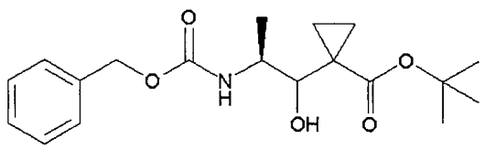
Una solución de diisopropilamina (0,740 mL) en THF (25 mL) se enfrió hasta –78 °C, se añadió solución de n–butil–litio–hexano (3,26 mL, 1,6 mol/L) gota a gota y, después de completar la adición gota a gota, la mezcla se agitó a –78 °C durante 1 h. Posteriormente, se añadió una solución de ciclopropancarboxilato de ter–butilo (0,800 g) en THF (5 mL) gota a gota y la mezcla luego se agitó a –78 °C durante 30 min. Una solución de (4S)–4–metil–2,5–dioxo–1,3–oxazolidin–3–carboxilato de bencilo (1,00 g) en THF (10 mL) se añadió gota a gota a –78 °C durante 10 min y la mezcla luego se agitó a –78 °C durante 30 min. Se añadió ácido acético (2,0 mL) a la mezcla de reacción y, después de calentar hasta temperatura ambiente, se añadió agua y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se lavó con salmuera saturada, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/acetato de etilo = 50/1→1/1) para dar el compuesto del título

en forma de un aceite incoloro (rendimiento: 401 mg, 29%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,10–1,54 (2H, m), 1,41 (3H, d, J = 7,0 Hz), 1,49 (9H, s), 1,54–1,78 (2H, m), 5,11 (2H, s), 5,16–5,33 (1H, m), 5,46–5,62 (1H, m), 7,27–7,43 (5H, m).

Ejemplo de referencia 66

1–((2S)–2–{[(benciloxi)carbonil]amino}–1–hidroxipropil)ciclopropancarboxilato de ter–butilo

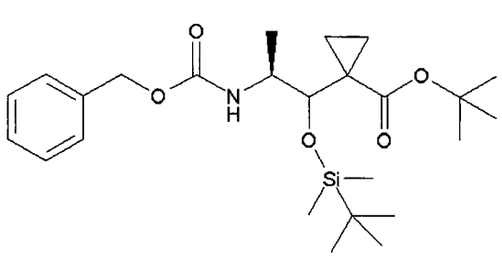


Una solución de 1–((2S)–2–{[(benciloxi)carbonil]amino}propanoil)ciclopropancarboxilato de ter–butilo (1,66 g) en metanol (25 mL) se enfrió hasta 0 °C, se agregó borhidruro de sodio de 90% (305 mg) y la mezcla se agitó a 0 °C durante 30 min. Se agregó agua a la mezcla de reacción y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se lavó con salmuera saturada, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/acetato de etilo = 30/1→1/1) para dar el compuesto del título en forma de un aceite incoloro (rendimiento: 1,58 g, 94%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,68–1,35 (7H, m), 1,44 (9H, s), 2,87–3,05 (1H, m), 3,53–4,20 (2H, m), 4,91–5,17 (3H, m), 7,29–7,40 (5H, m).

Ejemplo de referencia 67

1–((2S)–2–{[(benciloxi)carbonil]amino}–1–(ter–butildimetilsililoxi)propil)ciclopropancarboxilato de ter–butilo



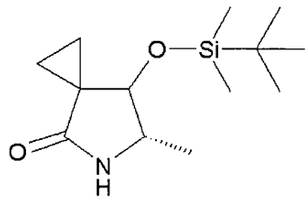
Una solución de 1–((2S)–2–{[(benciloxi)carbonil]amino}–1–

hidroxipropil)ciclopropancarboxilato de ter–butilo (1,58 g) en THF (15 mL) se enfrió hasta 0 °C, se le añadieron trifluorometansulfonato de ter–butil(dimetil)sililo (1,56 mL) y 2,6–dimetilpiridina (1,05 mL) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. Se agregó agua a la mezcla de reacción y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se lavó con salmuera saturada, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/acetato de etilo = 1/0→1/1) para dar el compuesto del título en forma de un aceite incoloro (rendimiento: 1,57 g, 75%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,03–0,14 (6H, m), 0,78–1,29 (7H, m), 0,88 (9H, s), 1,41 (9H, s), 3,83–4,28 (3H, s), 3,84–4,99 (2H, m), 7,28–7,41 (5H, m).

Ejemplo de referencia 68

(6S)–7–(ter–butildimetilsililoxi)–6–metil–5–azaespiro[2.4]heptan–4–ona



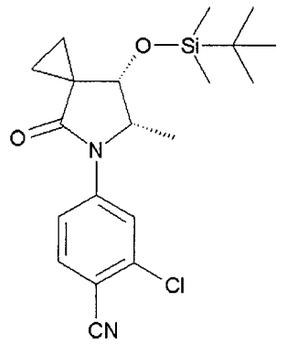
A una solución de 1–((2S)–2–{[(benciloxi)carbonil]amino}–1–(ter–butildimetilsililoxi)propil)ciclopropancarboxilato de ter–butilo (693,9 mg) en metanol (8 mL) se añadió paladio sobre carbón al 10% (que contiene 50% de agua, 80 mg) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 h bajo una atmósfera de hidrógeno y se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se disolvió en metanol (10 mL). Se añadió metóxido de sodio (404 mg) y la mezcla se calentó a reflujo durante 4 h. A solución acuosa saturada de cloruro de amonio, se añadió a la mezcla de reacción y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se lavó con

salmuera saturada, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/acetato de etilo = 30/1→1/3) para dar el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 200,8 mg, rendimiento: 60%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,00–0,09 (6H, m), 0,57–1,38 (4H, m), 0,86–0,92 (9H, m), 1,26–1,33 (3H, m), 3,47–4,49 (2H, m), 5,66–5,95 (1H, m).

Ejemplo de referencia 69

4–[(6S,7S)–7–(ter–butildimetilsililoxi)–6–metil–4–oxo–5–azaespiro[2.4]hept–5–il]–2–clorobenzonitrilo



Usando (6S)–7–(ter–butildimetilsililoxi)–6–metil–5–azaespiro[2.4]heptan–4–ona (200,8 mg), 4–bromo–2–clorobenzonitrilo (194,3 mg), carbonato de cesio (384 mg), tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0) (36 mg) y 4,5–bis(difenilfosfino)–9,9–dimetilxanteno (91 mg) y de la misma manera que en el Ejemplo de referencia 3, se obtuvieron el compuesto del título (rendimiento: 68,4 mg, rendimiento: 22,2%) y 4–[(6S,7R)–7–(ter–butildimetilsililoxi)–6–metil–4–oxo–5–azaespiro[2.4]hept–5–il]–2–clorobenzonitrilo (rendimiento: 161 mg, rendimiento: 52,4%) cada uno en forma de un sólido incoloro.

4–[(6S,7S)–7–(ter–butildimetilsililoxi)–6–metil–4–oxo–5–azaespiro[2.4]hept–5–il]–2–clorobenzonitrilo;

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,07 (3H, s), 0,12 (3H, s), 0,67–0,79 (1H, m), 0,88–1,37 (3H, m), 0,93 (9H, s), 1,30 (3H, d, J = 6,4 Hz), 4,29–

4,41 (1H, m), 4,59 (1H, d, J = 7,2 Hz), 7,01–8,04 (3H, m).

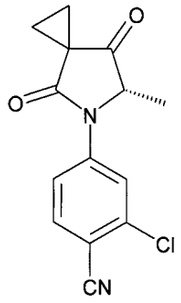
4–[(6S,7R)–7–(ter–butildimetilsililoxi)–6–metil–4–oxo–5–azaespiro[2.4]hept–5–il]–2–clorobenzonitrilo

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,06 (3H, s), 0,10 (3H, s), 0,89 (9H, s), 0,97–1,17 (2H, m), 1,21–1,42 (2H, m), 1,36 (3H, d, J = 6,6 Hz), 3,79–3,82 (1H, m), 4,06–4,19 (1H, m), 7,54–7,69 (2H, m), 7,91–7,95 (1H, m).

Punto de fusión: 169–172 °C.

Ejemplo de referencia 70

2–cloro–4–[(6S)–6–metil–4,7–dioxo–5–azaespiro[2.4]hept–5–il]benzonitrilo



Una solución de cloruro de oxalilo (0,050 mL) en cloruro de metileno (2,0 mL) se enfrió hasta –60 °C, se añadió dimetilsulfóxido (0,062 mL) gota a gota y la mezcla se agitó a la misma temperatura durante 30 min. Una solución de 2–cloro–4–[(6S,7R)–7–hidroxi–6–metil–4–oxo–5–azaespiro[2.4]hept–5–il]benzonitrilo (40,1 mg) en cloruro de metileno (2,5 mL) se añadió gota a gota a la mezcla de reacción y la mezcla se agitó a –40 °C durante 1 h. Se agregó trietilamina (0,202 mL) y la mezcla se agitó a 0 °C durante 30 min. Se agregó agua a la mezcla de reacción y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente:hexano/acetato de etilo = 50/1→1/1) para dar el compuesto del título en forma de un aceite de color amarillo claro (rendimiento: 35 mg, 88%).

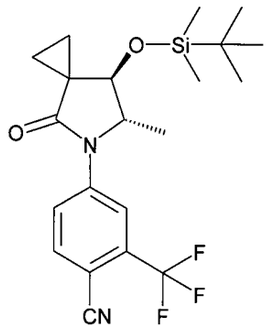
^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,50 (3H, d, J = 6,8 Hz), 1,78–1,96 (4H, m),

4,68 (1H, q, J = 6,9 Hz), 7,57 (1H, dd, J = 8,6, 2,1 Hz), 7,72 (1H, d, J = 8,6 Hz), 7,90 (1H, d, J = 2,1 Hz).

Punto de fusión: 169–172 °C

Ejemplo de referencia 71

4–[(6S,7R)–7–(ter–butildimetilsililoxi)–6–metil–4–oxo–5–azaespiro[2.4]hept–5–il]–2–(trifluorometil)benzonitrilo



Usando (6S)–7–(ter–butildimetilsililoxi)–6–metil–5–azaespiro[2.4]heptan–4–ona (720,5 mg), 4–yodo–2–trifluorometilbenzonitrilo (921,3 mg), carbonato de cesio (1,38 g), tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0) (129 mg) y 4,5–bis(difenilfosfino)–9,9–dimetilxanteno (326 mg) y de la misma manera que en el Ejemplo de referencia 3, se obtuvieron el compuesto del título (rendimiento: 670 mg, rendimiento del 56%) y 4–[(6S,7S)–7–(ter–butildimetilsililoxi)–6–metil–4–oxo–5–azaespiro[2.4]hept–5–il]–2–(trifluorometil)benzonitrilo (rendimiento: 309 mg, 26%) cada uno en forma de un sólido incoloro.

4–[(6S,7R)–7–(ter–butildimetilsililoxi)–6–metil–4–oxo–5–azaespiro[2.4]hept–5–il]–2–(trifluorometil)benzonitrilo

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,06 (3H, s), 0,10 (3H, s), 0,90 (9H, s), 0,99–1,18 (2H, m), 1,21–1,33 (1H, m), 1,31–1,44 (1H, m), 1,37 (3H, d, J = 6,4 Hz), 3,79–3,86 (1H, m), 4,09–4,25 (1H, m), 7,79–7,86 (2H, m), 8,23 (1H, s).

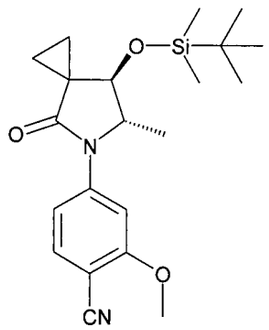
4–[(6S,7S)–7–(ter–butildimetilsililoxi)–6–metil–4–oxo–5–azaespiro[2.4]hept–5–il]–2–(trifluorometil)benzonitrilo

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,08 (3H, s), 0,13 (3H, s), 0,69–0,81 (1H,

m), 0,93 (9H, s), 0,93–1,09 (1H, m), 1,18–1,41 (2H, m), 1,32 (3H, d, J = 6,4 Hz), 4,43–4,46 (1H, m), 4,61 (1H, d, J = 7,2 Hz), 7,80 (1H, d, J = 8,7 Hz), 7,95 (1H, dd, J = 8,7, 2,3 Hz), 8,25 (1H, d, J = 2,3 Hz).

Ejemplo de referencia 72

4–[(6S,7R)–7–(ter–butildimetilsililoxi)–6–metil–4–oxo–5–azaespiro[2.4]hept–5–il]–2–metoxibenzonitrilo

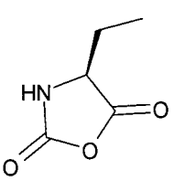


Usando (6S)–7–(ter–butildimetilsililoxi)–6–metil–5–azaespiro[2.4]heptan–4–ona (762,2 mg), 4–bromo–2–metoxibenzonitrilo (724 mg), carbonato de cesio (1,46 g), tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0) (136,6 mg) y 4,5–bis(difenilfosfino)–9,9–dimetilxanteno (345,3 mg) y de la misma manera que en el Ejemplo de referencia 3, se obtuvo el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 760 mg, 66%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,06 (3H, s), 0,09 (3H, s), 0,90 (9H, s), 0,96–1,14 (2H, m), 1,19–1,38 (2H, m), 1,36 (3H, d, J = 6,6 Hz), 3,80 (1H, d, J = 1,9 Hz), 3,93 (3H, s), 4,11–4,21 (1H, m), 6,80 (1H, dd, J = 8,5, 1,9 Hz), 7,53 (1H, d, J = 8,5 Hz), 7,92 (1H, d, J = 1,9 Hz).

Ejemplo de referencia 73

(4S)–4–etil–1,3–oxazolidin–2,5–diona



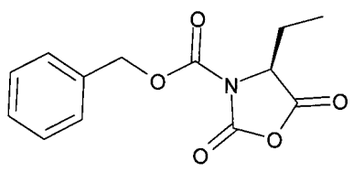
A una suspensión de ácido (2S)–2–aminobutanoico (10 g) y carbón activado (116 mg) en tetrahidrofurano (50 mL) se le añadió gota a gota una solución de trifosgeno (10,07 g) en tetrahidrofurano

(50 mL) a temperatura ambiente y la mezcla se agitó a 50 °C durante 2 h. El mismo proceso experimental se llevó a cabo dos veces, en cada uno de los cuales se filtraron los materiales insolubles con celite y los filtrados se combinaron y se concentraron a presión reducida. El residuo se lavó con hexano para dar el compuesto del título en forma de un sólido (rendimiento: 22,39 g, 89%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,06 (3H, t, J = 7,5 Hz), 1,81–2,03 (2H, m), 4,29–4,38 (1H, m), 5,79 (1H, brs).

Ejemplo de referencia 74

(4S)–4–etil–2,5–dioxo–1,3–oxazolidin–3–carboxilato de bencilo

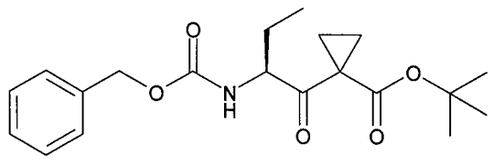


Una solución de (4S)–4–etil–1,3–oxazolidin–2,5–diona (69,57 g) y cloroformato de bencilo (101,1 g) en tetrahidrofurano (800 mL) se enfrió hasta 0 °C, se añadió N–metilmorfolina (81,74 g) gota a gota y la mezcla se agitó a 0 °C durante 2 h. Se agregó una solución de 4 mol/L de cloruro de hidrógeno – acetato de etilo (86,9 mL) gota a gota a 0 °C a la mezcla de reacción y el clorhidrato de morfolina precipitado se filtró con celite. El filtrado se concentró a presión reducida para dar el compuesto del título en forma de un aceite de color amarillo claro (rendimiento: 91,58 g, 52%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,95 (3H, t, J = 7,5 Hz), 1,75–2,35 (2H, m), 4,74 (1H, dd, J = 6,0, 3,2 Hz), 5,27–5,44 (2H, m), 7,28–7,49 (5H, m).

Ejemplo de referencia 75

1–((2S)–2–{[(benciloxi)carbonil]amino}butanoil) ciclopropancarboxilato de ter–butilo

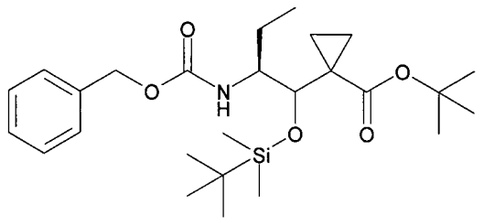


Una solución de diisopropilamina (3,76 mL) en tetrahidrofurano (50 mL) se enfrió hasta –78 °C, se añadió solución de n–butil–litio–hexano (16,56 mL, 1,6 mol/L) gota a gota y, después de completar la adición gota a gota, la mezcla se agitó a –78 °C durante 1 h. Posteriormente, se añadió una solución de ciclopropancarboxilato de ter–butilo (3,77 g) en tetrahidrofurano (10 mL) gota a gota y la mezcla luego se agitó a –78 °C durante 30 min. Una solución de (4S)–4–etil–2,5–dioxo–1,3–oxazolidin–3–carboxilato de bencilo (3,49 g) en tetrahidrofurano (50 mL) se añadió gota a gota a –78 °C durante 30 min y la mezcla se agitó a –78 °C durante 30 min. Se añadió ácido acético a la mezcla de reacción a –78 °C, se agregó agua y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se lavó con salmuera saturada, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/acetato de etilo = 1/0→2/1) para dar el compuesto del título en forma de un aceite incoloro (rendimiento: 1,16 g, 24%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,89 (3H, t, J = 7,6 Hz), 1,04–1,79 (6H, m), 1,50 (9H, s), 5,07–5,17 (2H, m), 5,25–5,38 (1H, m), 5,42–5,52 (1H, m), 7,29–7,40 (5H, m).

Ejemplo de referencia 76

1–((2S)–2–{[(benciloxi)carbonil]amino}–1–(ter–butildimetilsililoxi) butil)ciclopropancarboxilato de ter–butilo



A una solución de 1–((2S)–2–{[(benciloxi) carbonil]amino}butanoil)ciclopropancarboxilato de ter–butilo (1,16 g) en metanol (25 mL) se le añadió borhidruro de sodio (180 mg) a 0 °C y la mezcla se agitó a 0 °C durante 30 min. Se añadió cloruro de amonio acuoso a la mezcla de reacción y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/acetato de etilo = 50/1→1/1) para dar 1–((2S)–2–{[(benciloxi)carbonil]amino}–1–hidroxibutil)ciclopropancarboxilato de ter–butilo en forma de un aceite incoloro (rendimiento: 914,8 mg, rendimiento: 78%).

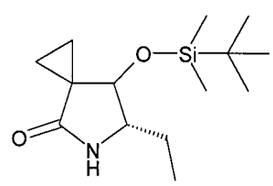
A una solución de 1–((2S)–2–{[(benciloxi)carbonil]amino}–1–hidroxibutil)ciclopropancarboxilato de ter–butilo (914,8 mg) y 2,6–lutidina (0,632 mL) en tetrahidrofurano (20 mL) se añadió bajo enfriamiento con hielo trifluorometansulfonato de ter–butildimetilsilano (0,934 mL) y, después de calentar hasta temperatura ambiente, la mezcla se agitó durante 1 h. La mezcla de reacción se añadió al agua y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se lavó con salmuera saturada, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/acetato de etilo = 50/1→2/1) para dar el compuesto del título en forma de un aceite incoloro (rendimiento:

1,18 g, 98%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,03–0,10 (6H, m), 0,77–1,48 (9H, m), 0,81–0,92 (9H, m), 1,36–1,47 (9H, m), 3,61–3,77 (1H, m), 4,19–4,28 (1H, m), 4,71–4,84 (1H, m), 5,03–5,18 (2H, m), 7,13–7,41 (5H, m).

Ejemplo de referencia 77

(6S)–7–(ter–butildimetilsililoxi)–6–etil–5–azaespiro[2.4]heptan–4–ona

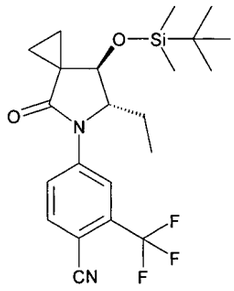


A una solución de 1–((2S)–2–{[(benciloxi)carbonil]amino}–1–(ter–butildimetilsililoxi)butil)ciclopropancarboxilato de ter–butilo (1,18 g) en metanol (20 mL) se le añadió paladio sobre carbón al 10% (150 mg) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 18 h bajo una atmósfera de hidrógeno y se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se disolvió en metanol (20 mL). Se añadió metóxido de sodio (230 mg) y la mezcla se calentó a reflujo durante 2,5 h. Se le agregó agua a la mezcla de reacción y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/acetato de etilo = 30/1→1/2) para dar el compuesto del título en forma de un aceite incoloro (rendimiento: 397,8 mg, 60%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,00–0,07 (6H, m), 0,59–1,29 (7H, m), 0,87–0,92 (9H, m), 1,40–1,57 (1H, m), 1,60–1,81 (1H, m), 3,34–3,66 (1H, m), 3,84–3,90 (1H, m), 5,51–5,73 (1H, m).

Ejemplo de referencia 78

4–[(6S,7R)–7–(ter–butildimetilsililoxi)–6–etil–4–oxo–5–azaespiro[2.4]hept–5–il]–2–(trifluorometil)benzonitrilo

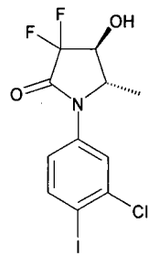


Usando (6S)–7–(ter–butildimetilsililoxi)–6–etil–5–azaespiro[2.4]heptan–4–ona (397,8 mg), 4–yodo–2–trifluorometilbenzonitrilo (482 mg), carbonato de cesio (721 mg), tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0) (68 mg) y 4,5–bis(difenilfosfino)–9,9–dimetilxanteno (171 mg) y de la misma manera que en el Ejemplo de referencia 3, se obtuvo el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 433,7 mg, 67%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,07 (3H, s), 0,11 (3H, s), 0,90 (9H, s), 0,96 (3H, t, J = 7,6 Hz), 1,02–1,17 (2H, m), 1,30–1,38 (2H, m), 1,65–1,83 (2H, m), 3,83–3,91 (1H, m), 4,05–4,16 (1H, m), 7,80–7,86 (2H, m), 8,28 (1H, s).

Ejemplo de referencia 79

(4S,5S)–1–(3–cloro–4–yodofenil)–3,3–difluoro–4–hidroxi–5–metilpirrolidin–2–ona



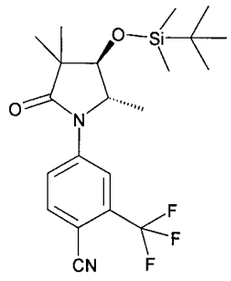
A una solución de (4S,5S)–1–(3–clorofenil)–3,3–difluoro–4–hidroxi–5–metilpirrolidin–2–ona (110,5 mg) y N–yodosuccinimida (130 mg) en ácido acético (3 mL) se le añadió gota a gota ácido sulfúrico concentrado (3 gotas) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 18 h. La mezcla de reacción se concentró, se

añadió agua y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/acetato de etilo = 50/1→1/2) para dar el compuesto del título en forma de un aceite de color amarillo claro (rendimiento: 113 mg, 69%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,38 (3H, dd, J = 6,5, 1,2 Hz), 2,38 (1H, brs), 4,05–4,23 (2H, m), 7,14 (1H, dd, J = 8,7, 2,5 Hz), 7,64 (1H, d, J = 2,5 Hz), 7,90 (1H, d, J = 8,7 Hz).

Ejemplo de referencia 80

4–[(4R,5S)–4–(ter–butildimetilsililoxi)–3,3,5–trimetil–2–oxopirrolidin–1–il]–2–(trifluorometil)benzonitrilo

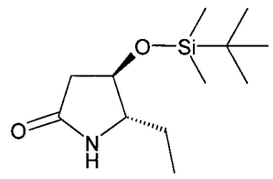


Usando (4R,5S)–4–(ter–butildimetilsililoxi)–3,3,5–trimetilpirrolidin–2–ona (266,6 mg), 4–yodo–2–trifluorometilbenzonitrilo (340 mg), carbonato de cesio (505 mg), tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0) (47 mg) y 4,5–bis(difenilfosfino)–9,9–dimetilxanteno (120 mg) y de la misma manera que en el Ejemplo de referencia 3, se obtuvo el compuesto del título en forma de un aceite de color amarillo claro (rendimiento: 391,7 mg, rendimiento: 89%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,15 (3H, s), 0,15 (3H, s), 0,95 (9H, s), 1,13 (3H, s), 1,30 (3H, s), 1,31 (3H, d, J = 6,2 Hz), 3,75 (1H, d, J = 6,2 Hz), 3,89–4,02 (1H, m), 7,58–7,74 (1H, m), 7,80–7,93 (2H, m).

Ejemplo de referencia 81

(4R,5S)–4–(ter–butildimetilsililoxi)–5–etilpirrolidin–2–ona



Una solución de diisopropilamina (74,5 mL) en tetrahidrofurano (1 L) se enfrió hasta –78 °C, se agregó solución de n–butil–litio–hexano (329 mL, 1,6 mol/L) gota a gota y la mezcla se agitó durante 1 h. Se añadió acetato de etilo (51,6 mL) gota a gota y la mezcla se agitó a –78 °C durante 1 h. Luego, se agregó una solución de [(1S)–1–(1H–imidazol–1–ilcarbonil)propil]carbamato de bencilo preparada a partir de ácido (2S)–2–{[(benciloxi)carbonil]amino}butanoico (50 g) y N,N'–carbonildiimidazol (39,5 g) en tetrahidrofurano (300 mL) gota a gota a –78 °C. Después de agitar a –78 °C durante 1 h, se añadió ácido acético a la mezcla de reacción. Se agregó agua y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/acetato de etilo = 1/0→2/1) para dar (4S)–4–{[(benciloxi)carbonil]amino}–3–oxohexanoato de etilo en forma de un aceite incoloro (rendimiento: 36,7 g, 57%).

A una solución de (4S)–4–{[(benciloxi)carbonil]amino}–3–oxohexanoato de etilo (70,68 g) en metanol (500 mL) se le añadió borhidruro de sodio (9,66 g) a –78 °C y la mezcla se agitó a –78 °C durante 1 h y a temperatura ambiente durante 1 h. Se añadió cloruro de amonio acuoso saturado a la mezcla de reacción y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: acetato de etilo) para dar (4S)–4–{[(benciloxi)carbonil]amino}–3–

hidroxihexanoato de etilo (rendimiento: 63,2 g, 89%) en forma de un sólido incoloro.

A una solución de (4S)–4–{[(benciloxi)carbonil]amino}–3–hidroxihexanoato de etilo (63,2 g) y 2,6–lutidina (47,6 mL) en tetrahidrofurano (800 mL) se añadió trifluorometansulfonato de ter–butildimetilsilano (70 mL) bajo enfriamiento con hielo y, después de calentar hasta temperatura ambiente, la mezcla se agitó durante 1 h. Se agregó agua a la mezcla de reacción y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/acetato de etilo = 1/0→1/1) para dar (4S)–4–{[(benciloxi)carbonil]amino}–3–(ter–butildimetilsililoxi)hexanoato de etilo en forma de un aceite incoloro (rendimiento: 64,0 g, 74%).

A una solución de (4S)–4–{[(benciloxi)carbonil]amino}–3–(ter–butildimetilsililoxi)hexanoato de etilo (64,0 g) en metanol (500 mL) se añadió paladio sobre carbón al 10% (que contiene 50% de agua, 6,5 g) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3,5 h bajo una atmósfera de hidrógeno y se filtró. Se añadió metóxido de sodio (13,6 g) se añadió al filtrado y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Se agregó agua a la mezcla de reacción y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/acetato de etilo = 20/1→1/4) para dar el compuesto del título (rendimiento: 21,6 g, 59%) y (4S,5S)–4–(ter–butildimetilsililoxi)–5–etilpirrolidin–2–ona (rendimiento: 4,64 g, 13%) en forma de un sólido incoloro y un aceite incoloro, respectivamente.

(4R,5S)–4–(ter–butildimetilsililoxi)–5–etilpirrolidin–2–ona

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,07 (3H, s), 0,08 (3H, s), 0,88 (9H, s), 0,96 (3H, t, J = 7,5 Hz), 1,33–1,54 (1H, m), 1,54–1,71 (1H, m), 2,26

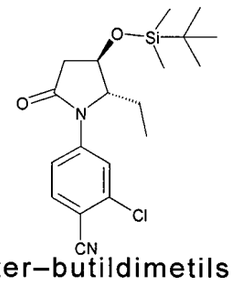
(1H, dd, J = 16,9, 4,6 Hz), 2,60 (1H, dd, J = 16,9, 6,9 Hz), 3,30–3,41 (1H, m), 4,05–4,18 (1H, m), 5,71 (1H, brs).

(4S,5S)–4–(ter–butildimetilsililoxi)–5–etilpirrolidin–2–ona

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,068 (3H, s), 0,070 (3H, s), 0,89 (9H, s), 0,95 (3H, t, J = 7,5 Hz), 1,43–1,76 (2H, m), 2,26 (1H, dd, J = 16,9, 4,2 Hz), 2,51 (1H, dd, J = 16,7, 6,3 Hz), 3,43–3,56 (1H, m), 4,39–4,50 (1H, m), 5,94 (1H, brs).

Ejemplo de referencia 82

4–[(2S,3R)–3–(ter–butildimetilsililoxi)–2–etil–5–oxopirrolidin–1–il]–2–clorobenzonitrilo

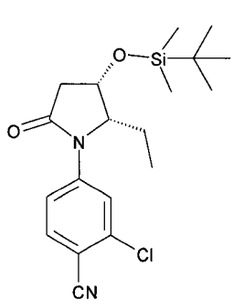


Usando (4R,5S)–4–(ter–butildimetilsililoxi)–5–etilpirrolidin–2–ona (320 mg), 4–bromo–2–clorobenzonitrilo (325 mg), carbonato de cesio (643 mg), tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0) (60 mg) y 4,5–bis(difenilfosfino)–9,9–dimetilxanteno (152 mg) y de la misma manera que en el Ejemplo de referencia 3, se obtuvo el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 366 mg, 73%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,11 (3H, s), 0,12 (3H, s), 0,89 (9H, s), 0,97 (3H, t, J = 7,5 Hz), 1,42–1,58 (1H, m), 1,65–1,79 (1H, m), 2,48 (1H, dd, J = 17,6,1,3 Hz), 2,91 (1H, dd, J = 17,6, 5,9 Hz), 3,97 (1H, dd, J = 9,3,2,1 Hz), 4,21–4,28 (1H, m), 7,56 (1H, dd, J = 8,7, 1,9 Hz), 7,65 (1H, d, J = 8,7 Hz), 7,90 (1H, d, J = 1,9 Hz).

Ejemplo de referencia 83

4–[(2S,3S)–3–(ter–butildimetilsililoxi)–2–etil–5–oxopirrolidin–1–il]–2–clorobenzonitrilo

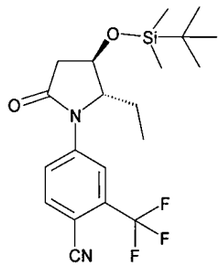


Usando (4S,5S)–4–(ter–butildimetilsililoxi)–5–etilpirrolidin–2–ona (470 mg), 4–bromo–2–clorobenzonitrilo (477 mg), carbonato de cesio (944 mg), tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0) (88,5 mg) y 4,5–bis(difenilfosfino)–9,9–dimetilxanteno (224 mg) y de la misma manera que en el Ejemplo de referencia 3, se obtuvo el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 550 mg, 75%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,13 (3H, s), 0,13 (3H, s), 0,92 (9H, s), 0,96 (3H, t, J = 7,6 Hz), 1,60–1,77 (1H, m), 1,76–1,92 (1H, m), 2,63 (1H, dd, J = 17,0, 6,8 Hz), 2,73 (1H, dd, J = 17,0, 6,8 Hz), 4,09–4,22 (1H, m), 4,63 (1H, q, J = 6,8 Hz), 7,49 (1H, dd, J = 8,5, 2,1 Hz), 7,65 (1H, d, J = 8,5 Hz), 7,76 (1H, d, J = 2,1 Hz).

Ejemplo de referencia 84

4–[(2S,3R)–3–(ter–butildimetilsililoxi)–2–etil–5–oxopirrolidin–1–il]–2–(trifluorometil)benzonitrilo

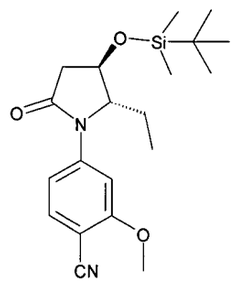


Usando (4R,5S)–4–(ter–butildimetilsililoxi)–5–etilpirrolidin–2–ona (1,00 g), 4–yodo–2–trifluorometilbenzonitrilo (1,46 g), carbonato de cesio (2,08 g), tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0) (193 mg) y 4,5–bis(difenilfosfino)–9,9–dimetilxanteno (490 mg) y de la misma manera que en el Ejemplo de referencia 3, se obtuvo el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 1,32 g, 78%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,12 (3H, s), 0,13 (3H, s), 0,89 (9H, s), 0,98 (3H, t, J = 7,5 Hz), 1,42–1,61 (1H, m), 1,64–1,80 (1H, m), 2,50 (1H, dd, J = 17,6, 1,5 Hz), 2,94 (1H, dd, J = 17,6, 5,9 Hz), 3,97–4,07 (1H, m), 4,23–4,31 (1H, m), 7,77–7,92 (2H, m), 8,14 (1H, d, J = 2,1 Hz).

Ejemplo de referencia 85

4–[(2S,3R)–3–(ter–butildimetilsililoxi)–2–etil–5–oxopirrolidin–1–il]–2–metoxibenzonitrilo

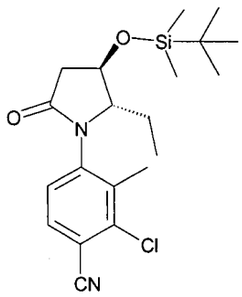


Usando (4R,5S)–4–(ter–butildimetilsililoxi)–5–etilpirrolidin–2–ona (1,00 g), 4–bromo–2–metoxibenzonitrilo (1,00 g), carbonato de cesio (2,08 g), tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0) (193 mg) y 4,5–bis(difenilfosfino)–9,9–dimetilxanteno (490 mg) y de la misma manera que en el Ejemplo de referencia 3, se obtuvo el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 1,04 g, 65%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,11 (3H, s), 0,12 (3H, s), 0,89 (9H, s), 0,96 (3H, t, J = 7,6 Hz), 1,39–1,55 (1H, m), 1,63–1,83 (1H, m), 2,48 (1H, dd, J = 17,4, 1,5 Hz), 2,91 (1H, dd, J = 17,4, 5,9 Hz), 3,94 (3H, s), 3,94–4,03 (1H, m), 4,19–4,28 (1H, m), 6,82 (1H, dd, J = 8,5, 1,9 Hz), 7,53 (1H, d, J = 8,5 Hz), 7,78 (1H, d, J = 1,9 Hz).

Ejemplo de referencia 86

4–[(2S,3R)–3–(ter–butildimetilsililoxi)–2–etil–5–oxopirrolidin–1–il]–2–cloro–3–metilbenzonitrilo



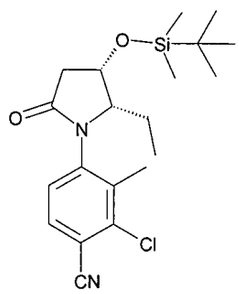
Usando (4R,5S)–4–(ter–butildimetilsililoxi)–5–etilpirrolidin–2–ona (1,00 g), 2–cloro–4–yodo–3–metilbenzonitrilo (1,31 g), carbonato de cesio (2,08 g), tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0) (193 mg) y 4,5–bis(difenilfosfino)–9,9–dimetilxanteno (490 mg) y de la misma manera que en el Ejemplo de referencia 3, se obtuvo el compuesto

del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 650 mg, 39%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,13 (3H, s), 0,13 (3H, s), 0,89–0,94 (3H, m), 0,92 (9H, s), 1,33–1,51 (1H, m), 1,51–1,67 (1H, m), 2,34 (3H, s), 2,44 (1H, dd, J = 17,3, 2,1 Hz), 2,85 (1H, dd, J = 17,3, 5,8 Hz), 3,59–3,76 (1H, m), 4,26 (1H, m), 7,15 (1H, d, J = 8,1 Hz), 7,57 (1H, d, J = 8,1 Hz).

Ejemplo de referencia 87

4–[(2S,3S)–3–(ter–butildimetilsililoxi)–2–etil–5–oxopirrolidin–1–il]–2–cloro–3–metilbenzonitrilo

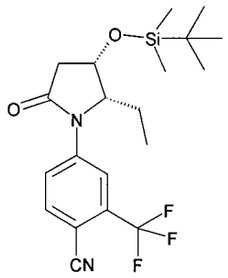


Usando (4S,5S)–4–(ter–butildimetilsililoxi)–5–etilpirrolidin–2–ona (1,00 g), 2–cloro–4–yodo–3–metilbenzonitrilo (1,31 g), carbonato de cesio (2,08 g), tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0) (193 mg) y 4,5–bis(difenilfosfino)–9,9–dimetilxanteno (490 mg) y de la misma manera que en el Ejemplo de referencia 3, se obtuvo el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 134,5 mg, rendimiento: 8%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,12 (3H, s), 0,15 (3H, s), 0,85 (3H, t, J = 7,4 Hz), 0,91 (9H, s), 1,49–1,76 (2H, m), 2,31 (3H, s), 2,45–2,56 (1H, m), 2,74 (1H, dd, J = 16,8, 4,9 Hz), 3,83–3,97 (1H, m), 4,51–4,59 (1H, m), 6,99–7,16 (1H, m), 7,55 (1H, d, J = 8,3 Hz).

Ejemplo de referencia 88

4–[(2S,3S)–3–(ter–butildimetilsililoxi)–2–etil–5–oxopirrolidin–1–il]–2–(trifluorometil)benzonitrilo

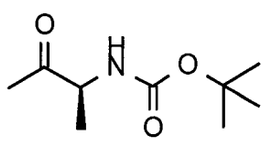


Una suspensión de (4S,5S)–4–(ter–butildimetilsililoxi)–5–etilpirrolidin–2–ona (6,00 g), 4–yodo–2–trifluorometilbenzonitrilo (8,42 g), carbonato de cesio (12,05 g), tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0) (1,13 g) y 4,5–bis(difenilfosfino)–9,9–dimetilxanteno (2,14 g) en tolueno (70 mL) se agitó a 80 °C durante 18 h. Se añadieron agua y acetato de etilo a la mezcla de reacción y se filtró el material insoluble. El filtrado se extrajo con acetato de etilo. El extracto se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/acetato de etilo = 50/1→1/2) para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo claro (rendimiento: 7,76 g, 76%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,14 (3H, s), 0,14 (3H, s), 0,93 (9H, s), 0,96 (3H, t, J = 7,5 Hz), 1,60–1,78 (1H, m), 1,77–1,94 (1H, m), 2,66 (1H, dd, J = 17,0, 6,8 Hz), 2,76 (1H, dd, J = 17,0, 7,2 Hz), 4,16–4,26 (1H, m), 4,66 (1H, q, J = 6,9 Hz), 7,81–7,87 (2H, m), 7,94–7,99 (1H, m).

Ejemplo de referencia 89

[(1S)–1–metil–2–oxopropil]carbamato de ter–butilo



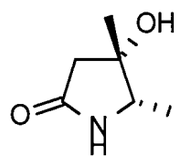
Una solución de {(1S)–1–[metoxi(metil)carbamoil]etil}carbamato

de ter–butilo (5,26 g) en tetrahidrofurano (300 mL) se enfrió con hielo seco/acetona bajo una atmósfera de nitrógeno y se añadió solución de 1,6 mol/L–metil–litio/éter dietílico (38,8 mL). Después de agitar a la misma temperatura durante 1,5 h, se agregó solución acuosa saturada de cloruro de amonio (100 mL) a la solución de reacción y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica obtenida se lavó con salmuera saturada, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida para dar el compuesto del título en forma de un aceite incoloro (rendimiento: 4,48 g).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,34 (3H, d, J = 7,2 Hz), 1,44 (9H, s), 2,21 (3H, s), 4,23–4,40 (1H, m), 5,26 (1H, brs).

Ejemplo de referencia 90

(4S,5S)–4–hidroxi–4,5–dimetilpirrolidin–2–ona



Una solución de diisopropilamina (3,44 g) en tetrahidrofurano (50 mL) se enfrió en hielo bajo una atmósfera de nitrógeno y se añadió solución 1,6 mol/L de n–butil–litio–hexano (20,8 mL). La mezcla se agitó a la misma temperatura durante 20 min y la solución de reacción se enfrió con hielo seco/acetona. Se añadió acetato de etilo (3,28 mL) a la solución de reacción y la mezcla se agitó a la misma temperatura durante 30 min. Una solución de [(1S)–1–metil–2–oxopropil]carbamato de ter–butilo (4,48 g) en tetrahidrofurano (10 mL). La mezcla se agitó a la misma temperatura durante 5 h, se añadió solución acuosa saturada de cloruro de amonio (100 mL) y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica obtenida se lavó con salmuera saturada, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: acetato de

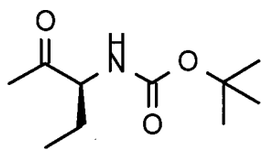
etilo/hexano = 0→30%), el aceite obtenido se disolvió en solución 4 mol/L de cloruro de hidrógeno–acetato de etilo (50 mL) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La solución de reacción se concentró a presión reducida, el residuo se disolvió en tetrahidrofurano (150 mL) y se agregó diisopropiletilamina (11,5 mL). La solución de reacción se calentó a reflujo bajo calentamiento durante 4 h y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: metanol/acetato de etilo = 0→10%) y el sólido obtenido se recristalizó en isopropanol/hexano para dar el compuesto del título en forma de cristales incoloros (rendimiento: 1,51 g, 55%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,00 (3H, d, J = 6,4 Hz), 1,20 (3H, s), 2,06 (1H, d, J = 6,2 Hz), 2,24 (1H, d, J = 6,2 Hz), 3,33 (1H, q, J = 6,4 Hz), 4,72 (1H, s), 7,48 (1H, brs).

Punto de fusión: 168–171 °C.

Ejemplo de referencia 91

[(1S)–1–etil–2–oxopropil]carbamato de ter–butilo



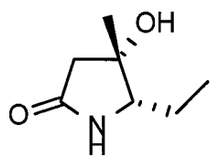
Una solución de {(1S)–1–[metoxi(metil)carbamoil] propil}carbamato de ter–butilo (15,0 g) en tetrahidrofurano (150 mL) se enfrió usando hielo seco/acetona bajo una atmósfera de nitrógeno y se le añadió solución de 1,0 mol/L–metil–litio/éter dietílico (300 mL). La mezcla se agitó a la misma temperatura durante 4 h, se añadió solución acuosa saturada de cloruro de amonio (300 mL) a la solución de reacción y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica obtenida se lavó con solución acuosa saturada de cloruro de amonio y salmuera saturada, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida para dar el compuesto del título en forma de un aceite incoloro (rendimiento:

12,75 g).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,89 (3H, dd, J = 7,6, 7,4 Hz), 1,44 (9H, s), 1,52–1,73 (1H, m), 1,86–2,03 (1H, m), 2,20 (3H, s), 4,21–4,38 (1H, m), 5,22 (1H, brs).

Ejemplo de referencia 92

(4S,5S)–5–etil–4–hidroxi–4–metilpirrolidin–2–ona



Una solución de diisopropilamina (7,50 g) en tetrahidrofurano (110 mL) se enfrió en hielo bajo una atmósfera de nitrógeno y se añadió solución de 1,6 mol/L n–butil–litio–hexano (45,4 mL). La mezcla se agitó a la misma temperatura durante 30 min y la solución de reacción se enfrió con hielo seco/acetona. Se añadió acetato de etilo (7,17 mL) a la solución de reacción y la mezcla se agitó a la misma temperatura durante 1 h. Una solución de [(1S)–1–etil–2–oxopropil]carbamato de ter–butilo (9,75 g) en tetrahidrofurano (60 mL) y la mezcla se agitó a la misma temperatura durante 5,5 h. Se agregó una solución acuosa saturada de cloruro de amonio (200 mL) y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica obtenida se lavó con solución acuosa saturada de cloruro de amonio y salmuera saturada, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: acetato de etilo/hexano = 10→30%) y el aceite obtenido se disolvió en solución 4 mol/L de cloruro de hidrógeno–acetato de etilo (80 mL) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La solución de reacción se concentró a presión reducida, el residuo se disolvió en tetrahidrofurano (285 mL) y se agregó diisopropiletilamina (22,2 mL). La solución de reacción se calentó a reflujo bajo calentamiento durante 4 h y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó

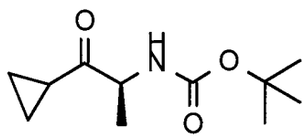
por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: metanol/acetato de etilo = 3→13%) y el sólido obtenido se recristalizó en acetato de etilo/hexano para dar el compuesto del título en forma de cristales incoloros (rendimiento: 4,69 g, 68%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,04 (3H, dd, J = 7,5 Hz), 1,40 (3H, s), 1,44–1,62 (1H, m), 1,62–1,80 (1H, m), 2,46 (2H, d, J = 1,5 Hz), 2,80 (1H, s), 3,32 (1H, dd, J = 9,4, 4,2 Hz), 6,78 (1H, brs).

Punto de fusión: 87–111 °C.

Ejemplo de referencia 93

[(1S)–2–ciclopropil–1–metil–2–oxoetil]carbamato de ter–butilo

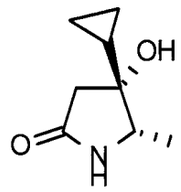


Una solución de {(1S)–1–[metoxi(metil)carbamoil]etil}carbamato de ter–butilo (10,0 g) en tetrahidrofurano (110 mL) se enfrió usando hielo seco/acetona bajo una atmósfera de nitrógeno y se le añadió solución 1,0 mol/bromuro de L–ciclopropilmagnesio/tetrahidrofurano (100 mL). La mezcla se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante 5 h, se añadió solución acuosa saturada de cloruro de amonio (200 mL) a la solución de reacción y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica obtenida se lavó con agua y salmuera saturada, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: acetato de etilo/hexano = 0→30%) para dar el compuesto del título en forma de un aceite amarillo (rendimiento: 3,65 g, 40%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,88–1,01 (2H, m), 1,02–1,17 (2H, m), 1,42 (3H, d, J = 7,4 Hz), 1,45 (9H, s), 1,95–2,06 (1H, m), 4,43–4,60 (1H, m), 5,35 (1H, brs).

Ejemplo de referencia 94

(4R,5S)–4–ciclopropil–4–hidroxi–5–metilpirrolidin–2–ona



Una solución de diisopropilamina (4,06 g) en tetrahidrofurano (40 mL) se enfrió en hielo bajo una atmósfera de nitrógeno y se añadió solución de 1,6 mol/L n–butil–litio–hexano (24,6 mL). La mezcla se agitó a la misma temperatura durante 20 min y la solución de reacción se enfrió con hielo seco/acetona. Se añadió acetato de etilo (3,88 mL) a la solución de reacción, la mezcla se agitó a la misma temperatura durante 30 min y se le añadió una solución de [(1S)–2–ciclopropil–1–metil–2–oxoetil]carbamato de ter–butilo (3,65 g) en tetrahidrofurano (10 mL). La mezcla se agitó a la misma temperatura durante 7 h, se agregó solución acuosa saturada de cloruro de amonio (100 mL) y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica obtenida se lavó con agua y salmuera saturada, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: acetato de etilo/hexano = 0→30%), el aceite obtenido se disolvió en solución 4 mol/L de cloruro de hidrógeno–acetato de etilo (30 mL) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La solución de reacción se concentró a presión reducida, el residuo se disolvió en tetrahidrofurano (80 mL) y se añadió diisopropiletilamina (8,09 mL). La solución de reacción se calentó a reflujo bajo calentamiento durante 4 h y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: metanol/acetato de etilo = 0→5%) y el sólido obtenido se recristalizó en acetato de etilo/hexano para dar el compuesto del título en forma de cristales incoloros (rendimiento: 1,65 g, 71%).

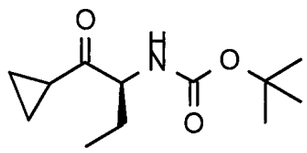
^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,27–0,61 (4H, m), 0,93–1,06 (1H, m), 1,24

(3H, d, J = 6,6 Hz), 2,04 (1H, s), 2,22 (1H, d, J = 17,2 Hz), 2,38 (1H, d, J = 17,2 Hz), 3,71 (1H, q, J = 6,6 Hz), 5,90 (1H, brs).

Punto de fusión: 133–140 °C.

Ejemplo de referencia 95

[(1S)–1–(ciclopropilcarbonil)propil]carbamato de ter–butilo

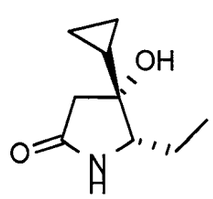


Una solución de {(1S)–1–[metoxi(metil)carbamoil] propil}carbamato de ter–butilo (14,3 g) en tetrahidrofurano (130 mL) se enfrió en hielo bajo una atmósfera de nitrógeno y se añadió solución 1,0 mol/bromuro de L–ciclopropilmagnesio/tetrahidrofurano (300 mL). La mezcla se agitó a la misma temperatura durante 4,5 h, se añadió solución acuosa saturada de cloruro de amonio (300 mL) a la solución de reacción y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica obtenida se lavó con solución acuosa saturada de cloruro de amonio y salmuera saturada, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: acetato de etilo/hexano = 0→16%) para dar el compuesto del título en forma de un aceite incoloro (rendimiento: 10,7 g, 94%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,90 (3H, dd, J = 7,6, 7,4 Hz), 0,88–1,16 (4H, m), 1,44 (9H, s), 1,67–1,81 (1H, m), 1,92–2,11 (2H, m), 4,44–4,59 (1H, m), 5,32 (1H, brs).

Ejemplo de referencia 96

(4R,5S)–4–ciclopropil–5–etil–4–hidroxipirrolidin–2–ona



Una solución de diisopropilamina (7,28 g) en tetrahidrofurano

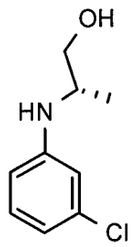
(110 mL) se enfrió en hielo bajo una atmósfera de nitrógeno y se añadió solución 1,6 mol/L n–butil–litio–hexano (44,1 mL). La mezcla se agitó a la misma temperatura durante 20 min y la solución de reacción se enfrió con hielo seco/acetona. Se añadió acetato de etilo (6,96 mL) a la solución de reacción, la mezcla se agitó a la misma temperatura durante 1 h y se agregó una solución de [(1S)–1–(ciclopropilcarbonil)propil]carbamato de ter–butilo (10,7 g) en tetrahidrofurano (60 mL). La mezcla se agitó a la misma temperatura durante 5 h, se le añadió solución acuosa saturada de cloruro de amonio (300 mL) y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica obtenida se lavó con solución acuosa saturada de cloruro de amonio y salmuera saturada, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: acetato de etilo/hexano = 5→25%), el aceite obtenido se disolvió en solución 4 mol/L de cloruro de hidrógeno–acetato de etilo (100 mL) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La solución de reacción se concentró a presión reducida, el residuo se disolvió en tetrahidrofurano (300 mL) y se le añadió diisopropiletilamina (22,7 mL). La solución de reacción se calentó a reflujo bajo calentamiento durante 4 h y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: metanol/acetato de etilo = 3→10%) y el sólido obtenido se recristalizó en acetato de etilo/éter dietílico/hexano para dar el compuesto del título en forma de cristales incoloros (rendimiento: 2,80 g, 39%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,29–0,55 (4H, m), 0,95–1,08 (1H, m), 1,04 (3H, dd, J = 7,6, 7,4 Hz), 1,45–1,63 (1H, m), 1,65–1,82 (1H, m), 2,23 (1H, d, J = 17,0 Hz), 2,37 (1H, d, J = 17,0 Hz), 2,44 (1H, s), 3,45 (1H, dd, J = 9,4, 4,0 Hz), 6,69 (1H, brs).

Punto de fusión: 87–102 °C.

Ejemplo de referencia 97

(2S)–2–[(3–clorofenil)amino]propan–1–ol

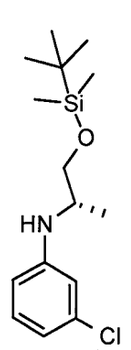


Una solución de (2S)–2–aminopropan–1–ol (11,7 g), 1–cloro–3–yodobenceno (36,1 g), fosfato tripotásico (66,4 g), yoduro de cobre (1,42 g) y etilenglicol (16,7 mL) en propan–2–ol (155 mL) se agitó a 80 °C durante 24 h bajo una atmósfera de argón. Se agregó agua (500 mL) a la solución de reacción y la mezcla se extrajo con éter dietílico. La capa orgánica obtenida se lavó con salmuera saturada, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: acetato de etilo/hexano = 0→30%) para dar el compuesto del título en forma de un aceite incoloro (rendimiento: 26,9 g, 97%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,21 (3H, d, J = 6,0 Hz), 1,78 (1H, brs), 3,47–3,68 (3H, m), 3,72 (1H, brd, J = 10,0 Hz), 6,51 (1H, ddd, J = 8,1, 2,3, 0,8 Hz), 6,63 (1H, dd, J = 2,3, 2,1 Hz), 6,68 (1H, ddd, J = 7,9, 2,1, 0,8 Hz), 7,07 (1H, dd, J = 8,1, 7,9 Hz).

Ejemplo de referencia 98

N–[(1S)–2–(ter–butildimetilsililoxi)–1–metiletil]–3–cloroanilina



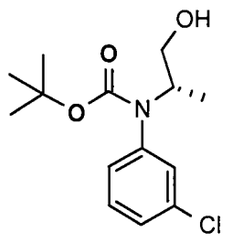
A una solución de (2S)–2–[(3–clorofenil)amino]propan–1–ol (7,00 g) en N,N–dimetilformamida (19 mL) se añadieron imidazol

(2,82 g) y ter–butil(cloro)dimetilsilano (6,38 g) y la mezcla se agitó a 50 °C durante 14 h. Se agregó agua (200 mL) a la solución de reacción y la mezcla se extrajo con éter dietílico. La capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: acetato de etilo/hexano = 0→40%) para dar el compuesto del título en forma de un aceite incoloro (rendimiento: 7,40 g, 65%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,04 (3H, s), 0,05 (3H, s), 0,90 (9H, s), 1,19 (3H, d, J = 6,2 Hz), 3,46–3,57 (1H, m), 3,61 (2H, d, J = 4,2 Hz), 3,90 (1H, d, J = 7,4 Hz), 6,46 (1H, d, J = 8,1 Hz), 6,58 (1H, s), 6,63 (1H, d, J = 7,9 Hz), 7,05 (1H, dd, J = 8,1,7,9 Hz).

Ejemplo de referencia 99

(3–clorofenil)[(1S)–2–hidroxi–1–metiletil]carbamato de ter–butilo



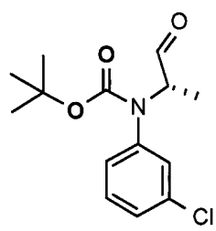
Una solución de N–[(1S)–2–(ter–butildimetilsililoxi)–1–metiletil]–3–cloroanilina (2,66 g) en tetrahidrofurano (20 mL) se enfrió usando hielo seco/acetona bajo una atmósfera de nitrógeno y se añadió solución de 1,6 mol/L n–butil–litio–hexano (6,65 mL). La mezcla se agitó a la misma temperatura durante 30 min, se le agregó una solución de di–ter–butil–dicarbonato (2,52 g) en tetrahidrofurano (5 mL). La solución de reacción se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante 4 h, se añadió agua (50 mL) y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: acetato de etilo/hexano = 0→5%), el aceite obtenido se disolvió en tetrahidrofurano (25 mL). Se añadió solución 1,0 mol/L de

fluoruro de tetrabutilamonio/tetrahidrofurano (11,5 mL) a la solución de reacción y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. Se agregó agua (50 mL) a la solución de reacción y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica obtenida se lavó con salmuera saturada, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: acetato de etilo/hexano = 0→40%) para dar el compuesto del título en forma de un aceite incoloro (rendimiento: 1,61 g, 64%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,08 (3H, d, J = 7,2 Hz), 1,37 (9H, s), 2,42 (1H, brs), 3,46–3,59 (1H, m), 3,62–3,74 (1H, m), 4,29–4,45 (1H, m), 7,04–7,08 (1H, m), 7,16–7,19 (1H, m), 7,26–7,30 (2H, m).

Ejemplo de referencia 100

(3–clorofenil)[(1S)–1–metil–2–oxoetil]carbamato de ter–butilo



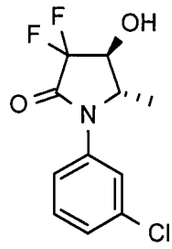
Una solución de cloruro de oxalilo (318 mg) en cloruro de metileno (6 mL) se enfrió usando hielo seco/acetona bajo una atmósfera de nitrógeno y se añadió una solución de DMSO (258 mg) en cloruro de metileno (6 mL). La mezcla se agitó a la misma temperatura durante 10 min, se agregó una solución de ter–butilo (3–clorofenil)[(1S)–2–hidroxi–1–metiletil]carbamato de (500 mg) en cloruro de metileno (8 mL) y la mezcla se agitó a la misma temperatura durante 10 min. Se agregó trietilamina (0,925 mL) y la mezcla se agitó a la misma temperatura durante 30 min. Se agregó agua (30 mL) y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica obtenida se lavó con salmuera saturada, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida para dar el compuesto del título en forma de un aceite incoloro

(rendimiento: 480 mg, 96%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,38–1,44 (3H, m), 1,42 (9H, s), 4,09–4,20 (1H, m), 7,09–7,16 (1H, m), 7,22–7,34 (3H, m), 9,75 (1H, s).

Ejemplo de referencia 101

(4S,5S)–1–(3–clorofenil)–3,3–difluoro–4–hidroxi–5–metilpirrolidin–2–ona



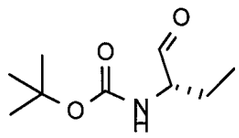
Se disolvieron (3–clorofenil)[(1S)–1–metil–2–oxoetil]carbamato de ter–butilo (19,5 g) y bromodifluoroacetato de etilo (41,3 g) en tetrahidrofurano (110 mL) y a una suspensión de cinc en polvo (13,6 g) en tetrahidrofurano (25 mL) se añadió gota a gota la solución a temperatura ambiente. Después de calentar a reflujo durante 1 h, la mezcla se enfrió hasta temperatura ambiente, se añadió 1 mol/L de solución acuosa de hidrógeno–sulfato de potasio (300 mL) y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica extraída se lavó con salmuera saturada, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: acetato de etilo/hexano = 0→10%), el aceite obtenido se disolvió en 4 mol/L de solución de cloruro de hidrógeno/acetato de etilo (100 mL) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La solución de reacción se concentró a presión reducida, se añadieron tetrahidrofurano (275 mL) y diisopropiletilamina (21,3 mL, 119 mmol) y la mezcla se calentó a reflujo durante 12 h. La solución de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente, se añadió agua (200 mL) y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica obtenida se lavó con salmuera saturada, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por

cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: acetato de etilo/hexano = 10→40%) para dar el compuesto del título en forma de un aceite amarillo (rendimiento: 3,76 g, 21%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,37 (3H, dd, J = 6,4, 1,3 Hz), 2,47 (1H, brs), 4,02–4,19 (2H, m), 7,26–7,31 (1H, m), 7,33–7,43 (2H, m), 7,47–7,53 (1H, m).

Ejemplo de referencia 102

[(1S)–1–formilpropil]carbamato de ter–butilo



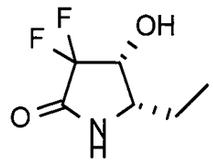
Una solución de [(1S)–1–(hidroximetil)propil]carbamato de ter–butilo (30,0 g) en dimetilsulfóxido (300 mL) se enfrió en hielo bajo una atmósfera de nitrógeno y se añadieron sucesivamente trietilamina (64,4 mL) y una solución de complejo de trióxido de azufre–piridina (80,7 g) en dimetilsulfóxido (300 mL). La mezcla se agitó a la misma temperatura durante 30 min y luego a temperatura ambiente durante 3 h, se le añadió 1 mol/L de solución acuosa de ácido cítrico (500 mL) a la solución de reacción y la mezcla se extrajo con éter dietílico. La capa orgánica obtenida se lavó con agua y salmuera saturada, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: acetato de etilo/hexano = 0→30%) para dar el compuesto del título en forma de un polvo blanco (rendimiento: 24,3 g, 85%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,97 (3H, dd, J = 7,6, 7,4 Hz), 1,45 (9H, s), 1,54–1,77 (1H, m), 1,85–2,02 (1H, m), 4,14–4,29 (1H, m), 5,11 (1H, brs), 9,59 (1H, s).

Punto de fusión: 39–43 °C.

Ejemplo de referencia 103

(4R,5S)–5–etil–3,3–difluoro–4–hidroxipirrolidin–2–ona



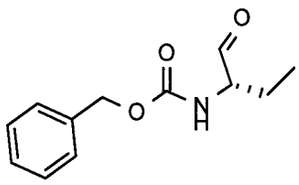
Se disolvieron [(1S)–1–formilpropil]carbamato de ter–butilo (24,00 g) y bromodifluoroacetato de etilo (77,0 g) en tetrahidrofurano (220 mL) y a una suspensión de cinc en polvo (25,4 g) en tetrahidrofurano (50 mL) se añadió gota a gota la solución a temperatura ambiente. Después de calentar a reflujo durante 1 h, la mezcla se enfrió hasta temperatura ambiente, se agregó 1 mol/L de solución acuosa de hidrógeno–sulfato de potasio (400 mL) y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica extraída se lavó con agua y salmuera saturada, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: acetato de etilo/hexano = 10→40%), el aceite obtenido se disolvió en 4 mol/L de solución de cloruro de hidrógeno/acetato de etilo (150 mL) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La solución de reacción se concentró a presión reducida y el residuo se disolvió en tetrahidrofurano (600 mL). Se agregó diisopropiletilamina (32,8 mL) y la mezcla se calentó a reflujo durante 4 h. La solución de reacción se concentró a presión reducida, el residuo se filtró a través de gel de sílice y el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo obtenido se recristalizó en acetato de etilo/hexano para dar el compuesto del título en forma de un polvo blanco (rendimiento: 7,20 g, 54%).

^{1}H–RMN (CD_3SOCD_3) δ: 0,89 (3H, dd, J = 7,5, 7,5 Hz), 1,18–1,38 (1H, m), 1,51–1,75 (1H, m), 3,47 (1H, dd, J = 13,0, 6,6 Hz), 4,14–4,39 (1H, m), 6,12 (1H, brd, J = 5,7 Hz), 8,99 (1H, brs).

Punto de fusión: 118–121 °C.

Ejemplo de referencia 104

[(1S)–1–formilpropil]carbamato de bencilo

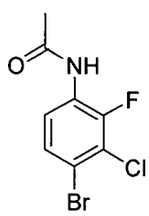


Una solución de [(1S)–1–(hidroximetil)propil]carbamato de bencilo (30,0 g) en dimetilsulfóxido (260 mL) se enfrió en hielo bajo una atmósfera de nitrógeno y se agregaron sucesivamente trietilamina (56,9 mL) y una solución de complejo de trióxido de azufre–piridina (71,3 g) en dimetilsulfóxido (260 mL). La mezcla se agitó a la misma temperatura durante 1 h y a temperatura ambiente durante 4 h. Se añadió 1 mol/L de solución acuosa de ácido cítrico (450 mL) a la solución de reacción y la mezcla se extrajo con éter dietílico. La capa orgánica obtenida se lavó con salmuera saturada, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: acetato de etilo/hexano = 0→30%) para dar el compuesto del título en forma de un aceite incoloro (rendimiento: 16,3 g, 55%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,96 (3H, dd, J = 7,5, 7,5 Hz), 1,63–1,81 (1H, m), 1,90–2,08 (1H, m), 4,24–4,39 (1H, m), 5,12 (2H, s), 5,37 (1H, brs), 7,31–7,42 (5H, m), 9,59 (1H, s).

Ejemplo de referencia 105

N–(4–bromo–3–cloro–2–fluorofenil)acetamida



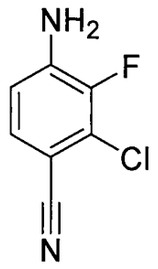
A una solución de 4–bromo–3–cloro–2–fluoroanilina (15,0 g) en acetato de etilo (200 mL) se añadió gota a gota anhídrido acético (7,57 mL) a 0 °C. Luego, se añadió gota a gota piridina (10,8 mL) y

la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se diluyó con acetato de etilo, se lavó con agua y salmuera saturada y se secó sobre sulfato de magnesio. El solvente se evaporó a presión reducida. El sólido obtenido se lavó con hexano para dar el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 17,1 g, 96%).

^{1}H–RMN (DMSO–d_6) δ: 2,10 (3H, s), 7,58 (1H, dd, J = 9,1, 1,9 Hz), 7,83–7,90 (1H, m), 9,98 (1H, s).

Ejemplo de referencia 106

4–amino–2–cloro–3–fluorobenzonitrilo



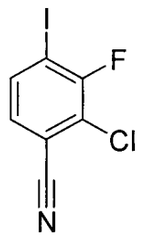
Una mezcla de N–(4–bromo–3–cloro–2–fluorofenil)acetamida (17,0 g) y cianuro de cobre (I) (5,88 g) en N,N–dimetilformamida se agitó a 150 °C durante la noche. Después de calentar hasta temperatura ambiente, se añadió agua y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con salmuera saturada y se secó sobre sulfato de magnesio y el solvente se evaporó a presión reducida para dar N–(3–cloro–4–ciano–2–fluorofenil)acetamida. Se agregó etanol (250 mL)–cloruro de hidrógeno concentrado (26,6 mL) a N–(3–cloro–4–ciano–2–fluorofenil)acetamida y la mezcla se calentó a reflujo durante la noche. La mezcla se enfrió en hielo y se neutralizó con solución acuosa saturada de carbonato hidrogenado de sodio y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con salmuera saturada y se secó sobre sulfato de magnesio y el solvente se evaporó a presión reducida. El residuo obtenido se purificó en columna y el sólido obtenido se lavó con hexano para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo claro

(rendimiento: 7,0 g, 64%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 4,35 (2H, br.s.), 6,63–6,71 (1H, m), 7,25 (1H, dd, J = 8,5, 1,7 Hz).

Ejemplo de referencia 107

2–cloro–3–fluoro–4–yodobenzonitrilo

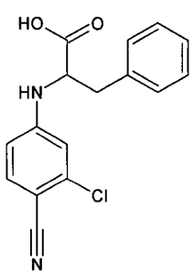


A una suspensión de yoduro de cobre (I) (9,24 g) en acetonitrilo (100 mL) se añadió nitrito de ter–butilo (90%, 6,95 g) a temperatura ambiente. Luego, una solución de 4–amino–2–cloro–3–fluorobenzonitrilo (6,9 g) en acetonitrilo (100 mL) se añadió gota a gota a 65 °C durante 1 h. La mezcla se agitó durante 2 h y se llevó hasta temperatura ambiente, se añadió solución acuosa de tiosulfato de sodio y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con salmuera saturada y se secó sobre sulfato de magnesio y el solvente se evaporó a presión reducida. El residuo obtenido se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice básica (eluyente: hexano→hexano/acetato de etilo = 4:1). El sólido obtenido se lavó con hexano para dar el compuesto del título en forma de cristales amarillos (rendimiento: 7,1 g, 62%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 7,22 (1H, dd, J = 8,2, 1,4 Hz), 7,80 (1H, dd, J = 8,2, 5,6 Hz).

Ejemplo de referencia 108

N–(3–cloro–4–cianofenil)fenilalanina

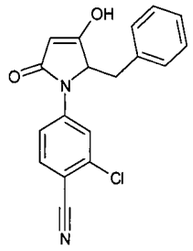


A una solución de 2–cloro–4–fluorobenzonitrilo (5,0 g) en dimetilsulfóxido (100 mL) se añadieron fenilalanina (6,37 g) y carbonato de cesio (13,6 g) y la mezcla se agitó a 90 °C durante la noche. Después de llegar a temperatura ambiente, se añadió acetato de etilo y la mezcla se extrajo 3 veces con solución acuosa saturada de carbonato hidrogenado de sodio. Las capas acuosas se combinaron y acidificaron con ácido cítrico y la mezcla se extrajo dos veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas se combinaron, se lavaron con salmuera saturada y se secaron sobre sulfato de magnesio. El solvente se evaporó a presión reducida para dar el compuesto del título en forma de un aceite marrón (rendimiento: 9,67 g, 100%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 3,09–3,19 (1H, m), 3,24–3,32 (1H, m), 4,37–4,47 (1H, m), 4,67–4,76 (1H, m), 6,44 (1H, dd, J = 8,6, 2,4 Hz), 6,59 (1H, d, J = 2,3 Hz), 7,12–7,19 (2H, m), 7,27–7,35 (3H, m), 7,40 (1H, d, J = 8,7 Hz).

Ejemplo de referencia 109

4–(2–bencil–3–hidroxi–5–oxo–2,5–dihidro–1H–pirrol–1–il)–2–clorobenzonitrilo



A una solución de N–(3–cloro–4–cianofenil)fenilalanina (2,0 g), ácido de Meldrum (1,05 g) y 4–(N,N–dimetilamino)piridina (1,22 g) en tetrahidrofurano (30 mL) se le añadió N,N'–carbonildiimidazol (1,29 g) a 0 °C y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Una solución acuosa al 5% de hidrógeno–sulfato de potasio se añadió a la mezcla de reacción y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con solución acuosa al 5% de hidrógeno–sulfato de potasio y salmuera saturada y se secó sobre

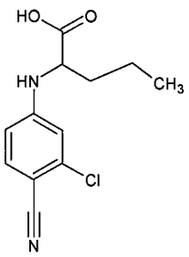
sulfato de magnesio. El solvente se evaporó a presión reducida. El residuo se disolvió en acetato de etilo (30 mL) y la mezcla se calentó a reflujo durante 45 min. Después de llegar a temperatura ambiente, la mezcla se extrajo 3 veces con solución acuosa saturada de carbonato hidrogenado de sodio. Las capas acuosas se combinaron y acidificaron con ácido cítrico y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con salmuera saturada y se secó sobre sulfato de magnesio. El solvente se evaporó a presión reducida y el residuo obtenido se recristalizó en tetrahidrofurano–hexano para dar el compuesto del título en forma de cristales de color amarillo claro (rendimiento: 1,41 g, 65%).

^{1}H–RMN (DMSO–d_6) δ: 3,01–3,21 (2H, m), 4,80 (1H, s), 5,25 (1H, t, J = 3,9 Hz), 6,73–6,81 (2H, m), 7,13–7,18 (3H, m), 7,70 (1H, dd, J = 8,8, 2,2 Hz), 7,96 (1H, d, J = 8,7 Hz), 8,00 (1H, d, J = 1,9 Hz), 12,50 (1H, br.s.).

Punto de fusión: 188–189 °C.

Ejemplo de referencia 110

N–(3–cloro–4–cianofenil)norvalina



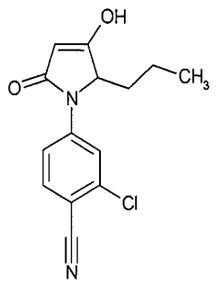
A una solución de 2–cloro–4–fluorobenzonitrilo (5,0 g) en dimetilsulfóxido (80 mL) se añadieron L–norvalina (4,52 g) y carbonato de cesio (13,6 g) y la mezcla se agitó a 90 °C durante la noche. Después de llegar a temperatura ambiente, se añadió acetato de etilo y la mezcla se extrajo dos veces con solución acuosa saturada de carbonato hidrogenado de sodio. Las capas acuosas se combinaron y acidificaron con ácido cítrico y la mezcla se extrajo dos veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas se combinaron, se lavaron con salmuera saturada y se secaron sobre sulfato de

magnesio. El solvente se evaporó a presión reducida para dar el compuesto del título en forma de un aceite marrón (rendimiento: 8,12 g, 100%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,97 (3H, t, J = 7,3 Hz), 1,40–1,54 (2H, m), 1,71–2,00 (2H, m), 4,08–4,16 (1H, m), 4,71 (1H, br.s.),6,50 (1H, dd, J = 8,7, 2,5 Hz), 6,64 (1H, d, J = 2,5 Hz), 7,42 (1H, d, J = 8,5 Hz).

Ejemplo de referencia 111

2–cloro–4–(3–hidroxi–5–oxo–2–propil–2,5–dihidro–1H–pirrol–1–il)benzonitrilo



A una solución de N–(3–cloro–4–cianofenil)norvalina (4,0 g), ácido de Meldrum (2,40 g) y 4–(N,N–dimetil)aminopiridina (2,90 g) en tetrahidrofurano (60 mL) se añadió N,N'–carbonildiimidazol (3,08 g) a 0 °C y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Una solución acuosa al 5% de hidrógeno–sulfato de potasio se añadió a la mezcla de reacción y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con solución acuosa al 5% de hidrógeno–sulfato de potasio y salmuera saturada y se secó sobre sulfato de magnesio. El solvente se evaporó a presión reducida. El residuo se disolvió en acetato de etilo (60 mL) y la mezcla se calentó a reflujo durante 45 min. Después de llegar a temperatura ambiente, la mezcla se extrajo dos veces con solución acuosa saturada de carbonato hidrogenado de sodio. Las capas acuosas se combinaron y acidificaron con ácido cítrico y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con salmuera saturada y se secó sobre sulfato de magnesio. El solvente se evaporó a presión reducida y el residuo obtenido se lavó con acetato de etilo para dar

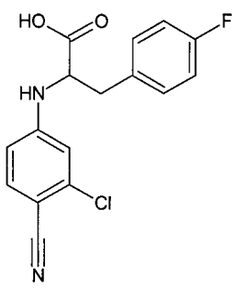
el compuesto del título en forma de cristales incoloros (rendimiento: 1,89 g, 43%).

^{1}H–RMN (DMSO–d_6) δ: 0,69–0,80 (3H, m), 0,90–1,14 (2H, m), 1,69–1,81 (2H, m), 5,00 (1H, t, J = 4,0 Hz), 5,03 (1H, s), 7,66 (1H, dd, J = 8,7, 2,1 Hz), 7,92 (1H, d, J = 8,9 Hz), 8,05 (1H, d, J = 1,9 Hz), 12,40 (1H, br.s.).

Punto de fusión: 156–158 °C.

Ejemplo de referencia 112

N–(3–cloro–4–cianofenil)–4–fluorofenilalanina

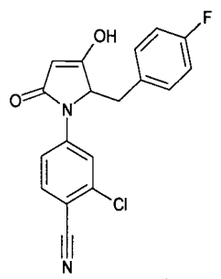


A una solución de 2–cloro–4–fluorobenzonitrilo (1,8 g) en dimetilsulfóxido (30 mL) se añadieron 4–fluorofenilalanina (2,54 g) y carbonato de cesio (4,90 g) y la mezcla se agitó a 90 °C durante la noche. Después de llegar a temperatura ambiente, se añadió acetato de etilo y la mezcla se extrajo dos veces con solución acuosa saturada de carbonato hidrogenado de sodio. Las capas acuosas se combinaron y acidificaron con ácido cítrico y la mezcla se extrajo dos veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas se combinaron, se lavaron con salmuera saturada y se secaron sobre sulfato de magnesio. El solvente se evaporó a presión reducida para dar el compuesto del título en forma de un aceite marrón (rendimiento: 3,69 g, 100%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 3,07–3,30 (2H, m), 4,40 (1H, q, J = 5,9 Hz), 4,72 (1H, d, J = 6,6 Hz), 6,46 (1H, dd, J = 8,7, 2,3 Hz), 6,60 (1H, d, J = 2,3 Hz), 6,94–7,05 (2H, m), 7,07–7,16 (2H, m), 7,41 (1H, d, J = 8,7 Hz).

Ejemplo de referencia 113

2-cloro-4-[2-(4-fluorobencil)-3-hidroxi-5-oxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il]benzonitrilo



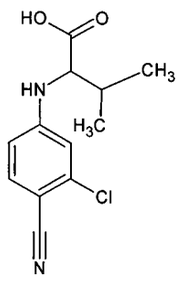
A una solución de N-(3-cloro-4-cianofenil)-4-fluorofenilalanina (3,67 g), ácido de Meldrum (1,74 g) y 4-(N,N-dimetilamino)piridina (2,11 g) en tetrahidrofurano (50 mL) se añadió N,N'-carbonildiimidazol (2,24 g, 13,8 mmol) a 0 °C y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Una solución acuosa al 5% de hidrógeno-sulfato de potasio se añadió a la mezcla de reacción y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con solución acuosa al 5% de hidrógeno-sulfato de potasio y salmuera saturada y se secó sobre sulfato de magnesio. El solvente se evaporó a presión reducida. El residuo se disolvió en acetato de etilo (50 mL) y la mezcla se calentó a reflujo durante 45 min. Después de llegar a temperatura ambiente, la capa orgánica se lavó con agua y salmuera saturada y se secó sobre sulfato de magnesio. El solvente se evaporó a presión reducida y el residuo obtenido se lavó con acetato de etilo-éter isopropílico para dar el compuesto del título en forma de cristales incoloros (rendimiento: 2,54 g, 64%).

^{1}H-RMN (DMSO-d_6) δ: 2,99-3,20 (2H, m), 4,82 (1H, s), 5,24 (1H, t, J = 3,8 Hz), 6,74-6,86 (2H, m), 6,94-7,06 (2H, m), 7,70 (1H, dd, J = 8,8, 2,2 Hz), 7,95 (1H, d, J = 8,7 Hz), 8,00 (1H, d, J = 2,1 Hz), 12,52 (1H, br.s.).

Punto de fusión: 192-194 °C.

Ejemplo de referencia 114

N–(3–cloro–4–cianofenil)valina

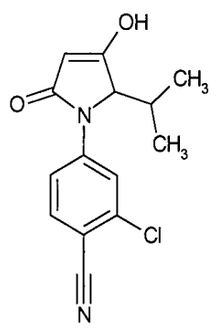


A una solución de 2–cloro–4–fluorobenzonitrilo (3,50 g) en dimetilsulfóxido (60 mL) se añadieron L–valina (3,16 g) y carbonato de cesio (9,53 g) y la mezcla se agitó a 90 °C durante la noche. Después de llegar a temperatura ambiente, se añadió acetato de etilo y la mezcla se extrajo dos veces con solución acuosa saturada de carbonato hidrogenado de sodio. Las capas acuosas se combinaron y acidificaron con ácido cítrico y la mezcla se extrajo dos veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas se combinaron, se lavaron con salmuera saturada y se secaron sobre sulfato de magnesio. El solvente se evaporó a presión reducida para dar el compuesto del título en forma de un aceite marrón (rendimiento: 5,69 g, 100%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,07 (6H, t, J = 6,7 Hz), 2,16–2,31 (1H, m), 3,91–3,99 (1H, m), 4,71 (1H, d, J = 8,9 Hz), 6,51 (1H, dd, J = 8,7, 2,3 Hz), 6,67 (1H, d, J = 2,5 Hz), 7,42 (1H, d, J = 8,7 Hz).

Ejemplo de referencia 115

2–cloro–4–[3–hidroxi–2–(1–metiletil)–5–oxo–2,5–dihidro–1H–pirrol–1–il]benzonitrilo



A una solución de N–(3–cloro–4–cianofenil)valina (5,66 g),

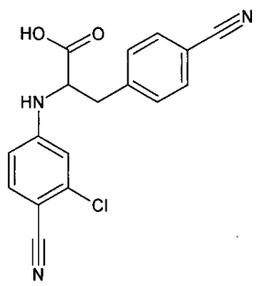
ácido de Meldrum (3,39 g) y 4–(N,N–dimetilamino)piridina (4,11 g) en tetrahidrofurano (70 mL) se añadió N,N'–carbonildiimidazol (4,36 g) a 0 °C y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Una solución acuosa al 5% de hidrógeno–sulfato de potasio se añadió a la mezcla de reacción y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con solución acuosa al 5% de hidrógeno–sulfato de potasio y salmuera saturada y se secó sobre sulfato de magnesio. El solvente se evaporó a presión reducida. El residuo se disolvió en acetato de etilo (70 mL) y la mezcla se calentó a reflujo durante 45 min. Después de llegar a temperatura ambiente, la capa orgánica se lavó con agua y salmuera saturada y se secó sobre sulfato de magnesio. El solvente se evaporó a presión reducida y el residuo obtenido se lavó con acetato de etilo–éter isopropílico para dar el compuesto del título en forma de cristales incoloros (rendimiento: 653 mg, 11%).

^{1}H–RMN (DMSO–d_6) δ: 0,65 (3H, d, J = 6,8 Hz), 1,12 (3H, d, J = 7,0 Hz), 2,01–2,16 (1H, m), 4,90 (1H, d, J = 2,6 Hz), 5,03 (1H, s), 7,61 (1H, dd, J = 8,7, 1,9 Hz), 7,92 (1H, d, J = 8,5 Hz), 8,02 (1H, d, J = 2,1 Hz), 12,33 (1H, br.s.).

Punto de fusión: 217–219 °C.

Ejemplo de referencia 116

N–(3–cloro–4–cianofenil)–4–cianofenilalanina



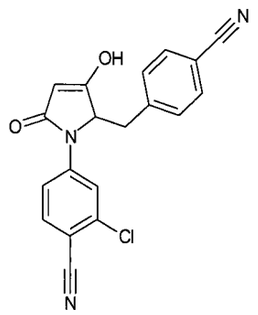
A una solución de 2–cloro–4–fluorobenzonitrilo (0,90 g) en dimetilsulfóxido (20 mL) se añadieron 4–cianofenilalanina (1,00 g) y carbonato de cesio (2,23 g) y la mezcla se agitó a 90 °C durante la noche. Después de calentar hasta temperatura ambiente, se añadió

acetato de etilo y la mezcla se extrajo dos veces con solución acuosa saturada de carbonato hidrogenado de sodio. Las capas acuosas se combinaron y acidificaron con ácido cítrico y la mezcla se extrajo dos veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas se combinaron, se lavaron con salmuera saturada y se secaron sobre sulfato de magnesio. El solvente se evaporó a presión reducida para dar el compuesto del título en forma de un aceite marrón (rendimiento: 1,57 g, 92%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 3,17–3,38 (2H, m), 4,41–4,51 (1H, m), 4,78 (1H, d, J = 7,7 Hz), 6,49 (1H, dd, J = 8,6, 2,4 Hz), 6,63 (1H, d, J = 2,5 Hz), 7,24–7,30 (2H, m), 7,44 (1H, d, J = 8,5 Hz), 7,56–7,64 (2H, m).

Ejemplo de referencia 117

2–cloro–4–[2–(4–cianobencil)–3–hidroxi–5–oxo–2,5–dihidro–1H–pirrol–1–il]benzonitrilo



A una solución de N–(3–cloro–4–cianofenil)–4–cianofenilalanina (1,57 g), ácido de Meldrum (0,76 g) y 4–(N,N–dimetilamino)piridina (0,88 g) en tetrahidrofurano (70 mL) se añadió N,N'–carbonildiimidazol (0,94 g) a 0 °C y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Una solución acuosa al 5% de hidrógeno–sulfato de potasio se añadió a la mezcla de reacción y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con solución acuosa al 5% de hidrógeno–sulfato de potasio y salmuera saturada y se secó sobre sulfato de magnesio. El solvente se evaporó a presión reducida. El residuo se disolvió en acetato de etilo (30 mL) y la mezcla se calentó a reflujo durante 45 min.

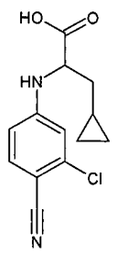
Después de llegar a temperatura ambiente, la capa orgánica se lavó con agua y salmuera saturada y se secó sobre sulfato de magnesio. El solvente se evaporó a presión reducida y el residuo obtenido se lavó con acetato de etilo–éter isopropílico para dar el compuesto del título en forma de cristales de color amarillo claro (rendimiento: 578 mg, 34%).

^{1}H–RMN (DMSO–d_6) δ: 3,08–3,30 (2H, m), 4,84 (1H, s), 5,33 (1H, t,J = 4,0 Hz), 6,98 (2H, d, J = 8,1 Hz), 7,63–7,73 (3H, m), 7,94–8,00 (2H, m), 12,60 (1H, br.s.).

Punto de fusión: 190–192 °C.

Ejemplo de referencia 118

N–(3–cloro–4–cianofenil)–3–ciclopropilalanina



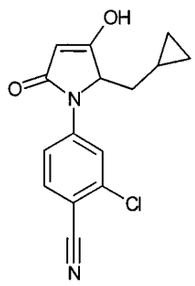
A una solución de 2–cloro–4–fluorobenzonitrilo (1,33 g) en dimetilsulfóxido (20 mL) se añadieron 3–ciclopropil–L–alanina (1,00 g) y carbonato de cesio (3,28 g) y la mezcla se agitó a 90 °C durante la noche. Después de llegar a temperatura ambiente, se añadió acetato de etilo y la mezcla se extrajo dos veces con solución acuosa saturada de carbonato hidrogenado de sodio. Las capas acuosas se combinaron y acidificaron con ácido cítrico y la mezcla se extrajo dos veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas se combinaron, se lavaron con salmuera saturada y se secaron sobre sulfato de magnesio. El solvente se evaporó a presión reducida para dar el compuesto del título en forma de un aceite marrón (rendimiento: 2,05 g, 100%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,10–0,21 (2H, m), 0,47–0,58 (2H, m), 0,72–0,87 (1H, m), 1,71–1,92 (2H, m), 4,14–4,24 (1H, m), 4,95 (1H, d, J = 7,9 Hz), 6,51 (1H, dd, J = 8,7, 2,5 Hz), 6,66 (1H, d, J = 2,3 Hz),

7,41 (1H, d, J = 8,5 Hz).

Ejemplo de referencia 119

2–cloro–4–[2–(ciclopropilmetil)–3–hidroxi–5–oxo–2,5–dihidro–1H–pirrol–1–il]benzonitrilo



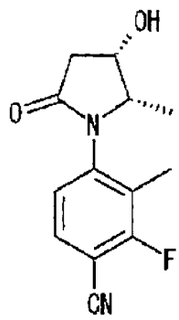
A una solución de N–(3–cloro–4–cianofenil)–3–ciclopropilalanina (2,05 g), ácido de Meldrum (1,35 g) y 4–(N,N–dimetilamino)piridina (1,56 g) en tetrahidrofurano (40 mL) se añadió N,N'–carbonildiimidazol (1,66 g) a 0 °C y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Una solución acuosa al 5% de hidrógeno–sulfato de potasio se añadió a la mezcla de reacción y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con solución acuosa al 5% de hidrógeno–sulfato de potasio y salmuera saturada y se secó sobre sulfato de magnesio. El solvente se evaporó a presión reducida. El residuo se disolvió en acetato de etilo (40 mL) y la mezcla se calentó a reflujo durante 45 min. Después de llegar a temperatura ambiente, la capa orgánica se lavó con agua y salmuera saturada y se secó sobre sulfato de magnesio. El solvente se evaporó a presión reducida y el residuo obtenido se lavó con acetato de etilo–éter isopropílico para dar el compuesto del título en forma de cristales de color amarillo claro (rendimiento: 844 mg, 34%).

^{1}H–RMN (DMSO–d_6) δ: –0,40 a –0,29 (1H, m), –0,10 a 0,02 (1H, m), 0,15–0,45 (3H, m), 1,64–1,81 (2H, m), 5,04 (1H, t, J = 3,8 Hz), 5,08 (1H, s), 7,67 (1H, dd, J = 8,7, 2,1 Hz), 7,91 (1H, d, J = 8,7 Hz), 8,04 (1H, d, J = 2,1 Hz), 12,39 (1H, s).

Punto de fusión: 152–154 °C.

Ejemplo 1

2–fluoro–4–[(2S,3S)–3–hidroxi–2–metil–5–oxopirrolidin–1–il]–3–metilbenzonitrilo



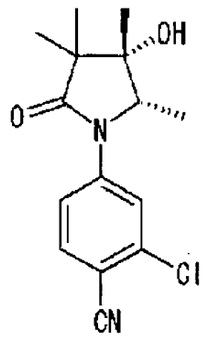
A una solución de 4–[(2S,3S)–3–(ter–butildimetilsililoxi)–2–metil–5–oxopirrolidin–1–il]–2–fluoro–3–metilbenzonitrilo (330 mg) en THF (10 mL) se añadió solución de fluoruro de tetrabutilamonio–THF (1,18 mL, 1 mol/L) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 5 h. La mezcla de reacción se añadió al agua y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se lavó con salmuera saturada, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice y se recristalizó en hexano–acetato de etilo para dar el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 139 mg, 62%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,13 (3H, d, J = 6,4 Hz), 1,80 (1H, d, J = 4,2 Hz), 2,20 (3H, d, J = 2,7 Hz), 2,60 (1H, dd, J = 17,4, 2,3 Hz), 2,87 (1H, dd, J = 17,4, 5,7 Hz), 4,15–4,26 (1H, m), 4,54–4,61 (1H, m), 6,98 (1H, d, J = 7,6 Hz), 7,45–7,55 (1H, m).

Punto de fusión: 114–115 °C.

Ejemplo 2

rac–2–cloro–4–[(2R,3R)–3–hidroxi–2,3,4,4–tetrametil–5–oxopirrolidin–1–il]benzonitrilo



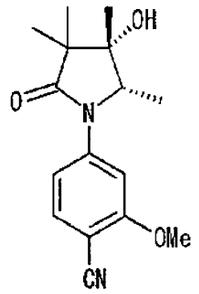
Una solución de 2–cloro–4–(3,3,5–trimetil–2,4–dioxopirrolidin–1–il)benzonitrilo (90 mg) en THF (5 mL) se enfrió hasta –78 °C, se añadió solución de bromuro de metilmagnesio–éter (0,22 mL, 3 mol/L) bajo una atmósfera de nitrógeno y la mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente. La mezcla de reacción se volvió a enfriar hasta –78 °C, se añadieron 3 mol/L de solución de bromuro de metilmagnesio–éter (0,89 mL) y la mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente. La mezcla de reacción se añadió a solución acuosa saturada de cloruro de amonio y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se lavó con salmuera saturada, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice y se recristalizó en hexano–acetato de etilo para dar el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 29 mg, 30%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,12 (3H, s), 1,25 (3H, d, J = 6,4 Hz), 1,25 (3H, s), 1,32 (3H, s), 1,41 (1H, s), 4,11 (1H, q, J = 6,4 Hz), 7,36 (1H, dd, J = 8,5, 2,1 Hz), 7,56 (1H, d, J = 2,1 Hz), 7,67 (1H, d, J = 8,5 Hz).

Punto de fusión: 161–163 °C.

Ejemplo 3

rac–4–[(2R,3R)–3–hidroxi–2,3,4,4–tetrametil–5–oxopirrolidin–1–il]–2–metoxibenzonitrilo



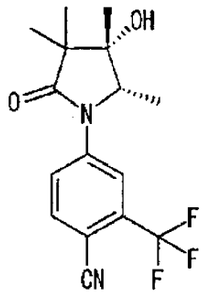
Usando 2–metoxi–4–(3,3,5–trimetil–2,4–dioxopirrolidin–1–il)benzonitrilo (100 mg) y solución de bromuro de metilmagnesio–THF (3,67 mL, 1,0 mol/L) y de la misma manera que en el Ejemplo 2, se obtuvo el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 96 mg, 90%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,13 (3H, s), 1,23–1,27 (6H, m), 1,32 (3H, s), 1,45 (1H, s), 3,94 (3H, s), 4,08–4,16 (1H, m), 6,75 (1H, dd, J = 8,3, 1,9 Hz), 7,26 (1H, d, J = 1,9 Hz), 7,54 (1H, d, J = 8,3 Hz).

Punto de fusión: 134–135 °C.

Ejemplo 4

rac–4–[(2R,3R)–3–hidroxi–2,3,4,4–tetrametil–5–oxopirrolidin–1–il]–2–(trifluorometil)benzonitrilo



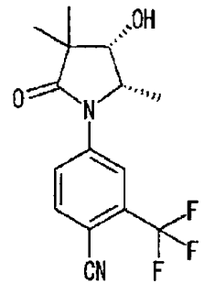
Usando 2–(trifluorometil)–4–(3,3,5–trimetil–2,4–dioxopirrolidin–1–il)benzonitrilo (100 mg) y solución de bromuro de metilmagnesio–THF (3,22 mL, 1,0 mol/L) y de la misma manera que en el Ejemplo 2, se obtuvo el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 77 mg, 73%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,13 (3H, s), 1,26 (3H, d, J = 6,2 Hz), 1,26 (3H, s), 1,34 (3H, s), 1,47 (1H, s), 4,18 (1H, q, J = 6,4 Hz), 7,68 (1H, dd, J = 8,5, 2,1 Hz), 7,79 (1H, d, J = 2,1 Hz), 7,84 (1H, d, J = 8,5 Hz).

Punto de fusión: 197–199 °C.

Ejemplo 5

rac–4–[(4R,5R)–4–hidroxi–3,3,5–trimetil–2–oxopirrolidin–1–il]–2–(trifluorometil)benzonitrilo



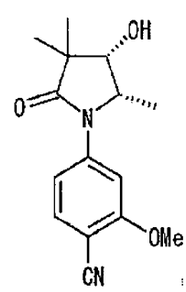
Una solución de 2–(trifluorometil)–4–(3,3,5–trimetil–2,4–dioxopirrolidin–1–il)benzonitrilo (50 mg) en THF (5 mL) se enfrió hasta –78 °C, se añadió solución de tri(sec–butil)borhidruro de litio–THF (0,242 mL, 1 mol/L) y la mezcla se agitó a –78 °C durante 30 min. Se agregó agua a la mezcla de reacción y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se lavó con salmuera saturada, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice y el sólido obtenido se recristalizó en hexano–acetato de etilo para dar el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 32,2 mg, 64%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,24 (3H, s), 1,31–1,36 (6H, m), 1,80 (1H, d, J = 5,1 Hz), 4,12 (1H, t, J = 5,3 Hz), 4,42–4,53 (1H, m), 7,75 (1H, dd, J = 8,7, 2,3 Hz), 7,85 (1H, d, J = 8,7 Hz), 7,93 (1H, d, J = 2,3 Hz).

Punto de fusión: 120,5–121,5 °C.

Ejemplo 6

rac–4–[(4R,5R)–4–hidroxi–3,3,5–trimetil–2–oxopirrolidin–1–il]–2–metoxibenzonitrilo



Usando 2–metoxi–4–(3,3,5–trimetil–2,4–dioxopirrolidin–1–

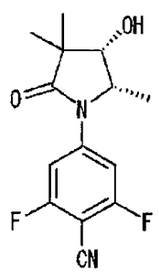
il)benzonitrilo (100 mg) y solución de tri(sec–butil)borhidruro de litio–THF (0,551 mL, 1 mol/L) y de la misma manera que en el Ejemplo 5, se obtuvo el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 75 mg, 74%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,23 (3H, s), 1,30–1,34 (6H, m), 1,78 (1H, d, J = 5,3 Hz), 3,94 (3H, s), 4,10 (1H, t, J = 5,4 Hz), 4,37–4,47 (1H, m), 6,80 (1H, dd, J = 8,5, 1,9 Hz), 7,46 (1H, d, J = 1,9 Hz), 7,55 (1H, d, J = 8,5 Hz).

Punto de fusión: 130–132 °C.

Ejemplo 7

rac–2,6–difluoro–4–[(4R,5R)–4–hidroxi–3,3,5–trimetil–2–oxopirrolidin–1–il]benzonitrilo



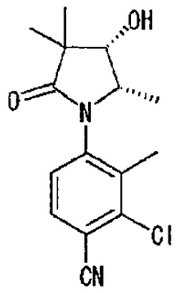
Usando 2,6–difluoro–4–(3,3,5–trimetil–2,4–dioxopirrolidin–1–il)benzonitrilo (100 mg) y solución de tri(sec–butil)borhidruro de litio–THF (0,539 mL, 1 mol/L) y de la misma manera que en el Ejemplo 5, se obtuvo el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 67 mg, 67%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,23 (3H, s), 1,30 (3H, s), 1,36 (3H, d, J = 6,6 Hz), 1,83 (1H, d, J = 5,1 Hz), 4,13 (1H, t, J = 5,6 Hz), 4,31–4,41 (1H, m), 7,25–7,32 (2H, m).

Punto de fusión: 139,5–140,5 °C.

Ejemplo 8

rac–2–cloro–4–[(4R,5R)–4–hidroxi–3,3,5–trimetil–2–oxopirrolidin–1–il]–3–metilbenzonitrilo



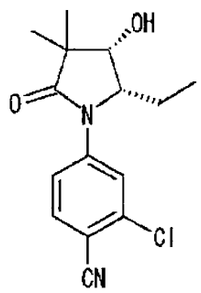
Usando 2–cloro–3–metil–4–(3,3,5–trimetil–2,4–dioxopirrolidin–1–il)benzonitrilo (23 mg) y solución de tri(sec–butil)borhidruro de litio–THF (0,119 mL, 1 mol/L) y de la misma manera que en el Ejemplo 5, se obtuvo el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 15 mg, 66%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,10 (3H, d, J = 6,6 Hz), 1,27 (3H, brs), 1,31 (3H, s), 1,75 (1H, d, J = 4,3 Hz), 2,29 (3H, s), 4,05 (1H, t, J = 4,3 Hz), 4,29 (1H, brs), 7,05 (1H, brs), 7,56 (1H, d, J = 8,1 Hz).

Punto de fusión: 219–221 °C.

Ejemplo 9

rac–2–cloro–4–[(4R,5R)–5–etil–4–hidroxi–3,3–dimetil–2–oxopirrolidin–1–il]benzonitrilo



Usando 2–cloro–4–(5–etil–3,3–dimetil–2,4–dioxopirrolidin–1–il)benzonitrilo (60 mg) y solución de tri(sec–butil)borhidruro de litio–THF (0,307 mL, 1 mol/L) y de la misma manera que en el Ejemplo 5, se obtuvo el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 50 mg, 84%).

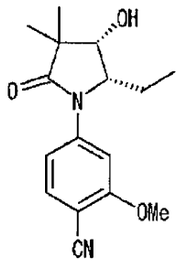
^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,03 (3H, t, J = 7,5 Hz), 1,20 (3H, s), 1,32

(3H, s), 1,60–1,84 (3H, m), 4,04–4,15 (2H, m), 7,34 (1H, dd, J = 8,5, 2,1 Hz), 7,56 (1H, d, J = 2,1 Hz), 7,67 (1H, d, J = 8,5 Hz).

Punto de fusión: 166–168 °C.

Ejemplo 10

rac–4–[(4R,5R)–5–etil–4–hidroxi–3,3–dimetil–2–oxopirrolidin–1–il]–2–metoxibenzonitrilo



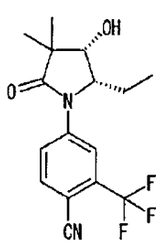
Usando 4–(5–etil–3,3–dimetil–2,4–dioxopirrolidin–1–il)–2–metoxibenzonitrilo (120 mg) y solución de tri(sec–butil)borhidruro de litio–THF (0,629 mL, 1 mol/L) y de la misma manera que en el Ejemplo 5, se obtuvo el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 93 mg, 77%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,01 (3H, t, J = 7,5 Hz), 1,21 (3H, s), 1,32 (3H, s), 1,48–1,88 (3H, m), 3,94 (3H, s), 4,11 (2H, dd, J = 4,0, 1,9 Hz), 6,74 (1H, dd, J = 8,3, 1,9 Hz), 7,26 (1H, d, J = 1,9 Hz), 7,55 (1H, d, J = 8,3 Hz).

Punto de fusión: 143,4–145 °C.

Ejemplo 11

rac–4–[(4R,5R)–5–etil–4–hidroxi–3,3–dimetil–2–oxopirrolidin–1–il]–2–(trifluorometil)benzonitrilo



Usando 4–(5–etil–3,3–dimetil–2,4–dioxopirrolidin–1–il)–2–(trifluorometil)benzonitrilo (120 mg) y solución de tri(sec–butil)borhidruro de litio–THF (0,555 mL, 1 mol/L) y de la misma

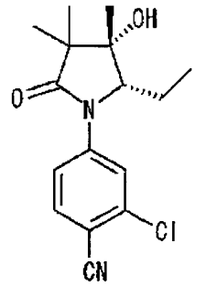
manera que en el Ejemplo 5, se obtuvo el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 76 mg, 63%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,04 (3H, t, J = 7,5 Hz), 1,22 (3H, s), 1,33 (3H, s), 1,64–1,83 (3H, m), 4,11–4,22 (2H, m), 7,65 (1H, dd, J = 8,5, 2,1 Hz), 7,81 (1H, d, J = 2,1 Hz), 7,84 (1H, d, J = 8,5 Hz).

Punto de fusión: 141,5–143 °C.

Ejemplo 12

rac–2–cloro–4–[(2R,3R)–2–etil–3–hidroxi–3,4,4–trimetil–5–oxopirrolidin–1–il]benzonitrilo



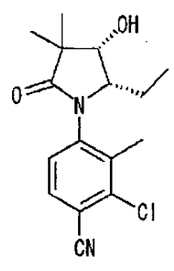
Usando 2–cloro–4–(5–etil–3,3–dimetil–2,4–dioxopirrolidin–1–il)benzonitrilo (48 mg) y solución de bromuro de metilmagnesio–THF (1,65 mL, 1,0 mol/L) y de la misma manera que en el Ejemplo 2, se obtuvo el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 27 mg, 53%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,01 (3H, t, J = 7,6 Hz), 1,11 (3H, s), 1,23 (3H, s), 1,39 (3H, s), 1,50 (1H, s), 1,63–1,77 (1H, m), 1,78–1,93 (1H, m), 3,89 (1H, dd, J = 8,7, 3,0 Hz), 7,34 (1H, dd, J = 8,5, 2,1 Hz), 7,55 (1H, d, J = 2,1 Hz), 7,67 (1H, d, J = 8,5 Hz).

Punto de fusión: 197,1–198,5 °C.

Ejemplo 13

rac–2–cloro–4–[(4R,5R)–5–etil–4–hidroxi–3,3–dimetil–2–oxopirrolidin–1–il]–3–metilbenzonitrilo



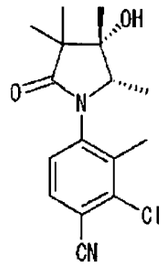
Usando 2–cloro–4–(5–etil–3,3–dimetil–2,4–dioxopirrolidin–1–il)–3–metilbenzonitrilo (310 mg) y solución de tri(sec–butil)borhidruro de litio–THF (1,53 mL, 1 mol/L) y de la misma manera que en el Ejemplo 5, se obtuvo el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 211 mg, 68%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,92 (3H, t, J = 7,5 Hz), 1,13–1,51 (8H, m), 1,72 (1H, d, J = 4,2 Hz), 2,23–2,35 (3H, m), 3,88–4,13 (2H, m), 6,99–7,19 (1H, m), 7,55 (1H, d, J = 8,1 Hz).

Punto de fusión: 180,5–181,5 °C.

Ejemplo 14

rac–2–cloro–4–[(2R,3R)–3–hidroxi–2,3,4,4–tetrametil–5–oxopirrolidin–1–il]–3–metilbenzonitrilo



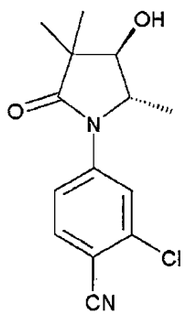
Usando 2–cloro–3–metil–4–(3,3,5–trimetil–2,4–dioxopirrolidin–1–il)benzonitrilo (40 mg) y solución de bromuro de metilmagnesio–THF (1,38 mL, 1,0 mol/L) y de la misma manera que en el Ejemplo 2, se obtuvo el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 24 mg, 57%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,95–1,12 (3H, m), 1,15–1,25 (6H, m), 1,30 (3H, s), 1,40–1,47 (1H, m), 2,24–2,34 (3H, m), 3,93–4,11 (1H, m), 6,98–7,23 (1H, m), 7,51–7,59 (1H, m).

Punto de fusión: 174,5–175,5 °C.

Ejemplo 15

rac–2–cloro–4–[(4R,5S)–4–hidroxi–3,3,5–trimetil–2–oxopirrolidin–1–il]benzonitrilo



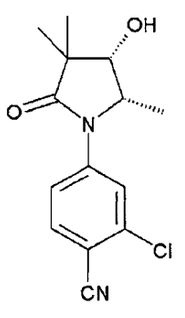
A una solución de rac–2–cloro–4–[(4R,5S)–4–(ter–butildimetilsililoxi)–3,3,5–trimetil–2–oxopirrolidin–1–il]benzonitrilo (121 mg) en THF (5,5 mL) se añadió solución de fluoruro de tetrabutilamonio–THF (0,5 mL, 1 mol/L) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 7 h. Se agregó agua a la mezcla de reacción y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se lavó con salmuera saturada, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/acetato de etilo = 10/1→1/2) para dar el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 47,2 mg, 55%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,17 (3H, s), 1,31 (3H, s), 1,37 (3H, d, J = 6,2 Hz), 1,91 (1H, d, J = 5,7 Hz), 3,79 (1H, t, J = 5,9 Hz), 3,90–4,03 (1H, m), 7,40 (1H, dd, J = 8,4, 2,2 Hz), 7,61–7,73 (2H, m).

Punto de fusión: 163–164 °C.

Ejemplo 16

rac–2–cloro–4–[(4R,5R)–4–hidroxi–3,3,5–trimetil–2–oxopirrolidin–1–il]benzonitrilo



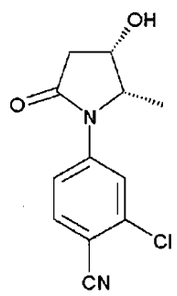
Usando rac–2–cloro–4–[(4R,5R)–4–(ter–butildimetilsililoxi)–3,3,5–trimetil–2–oxopirrolidin–1–il]benzonitrilo (400 mg) y solución de fluoruro de tetrabutilamonio–THF (3 mL, 1 mol/L) y de la misma manera que en el Ejemplo 15, se obtuvo el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 204 mg, 72%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,23 (3H, s), 1,31 (3H, s), 1,32 (3H, d, J = 6,6 Hz), 1,81 (1H, brs), 4,06–4,16 (1H, m), 4,33–4,48 (1H, m), 7,39–7,50 (1H, m), 7,61–7,73 (2H, m).

Punto de fusión: 143–144 °C.

Ejemplo 17

2–cloro–4–[(4S,5S)–4–hidroxi–5–metil–2–oxopirrolidin–1–il]benzonitrilo



Usando 2–cloro–4–[(4S,5S)–4–(ter–butildimetilsililoxi)–5–metil–2–oxopirrolidin–1–il]benzonitrilo (1,2 g) y solución de fluoruro de tetrabutilamonio–THF (4 mL, 1 mol/L) y de la misma manera que en el Ejemplo 15, se obtuvo el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 690 mg, 62%).

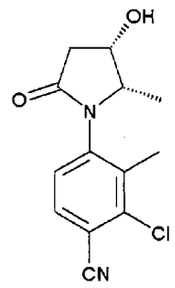
^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,32 (3H, d, J = 6,3 Hz), 2,00 (1H, d, J = 4,5 Hz), 2,68 (1H, dd, J = 17,4, 5,4 Hz), 2,85 (1H, dd, J = 17,4, 6,6 Hz), 4,30–4,42 (1H, m), 4,56–4,65 (1H, m), 7,48 (1H, dd, J = 8,7,1,8 Hz), 7,66 (1H, d, J = 8,7 Hz), 7,73 (1H, d, J = 1,8 Hz).

Punto de fusión: 161–162 °C.

220

Ejemplo 18

2–cloro–4–[(4S,5S)–4–hidroxi–5–metil–2–oxopirrolidin–1–il]–3–metilbenzonitrilo



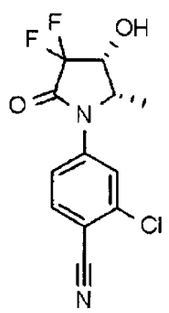
Usando 2–cloro–4–[(4S,5S)–4–(ter–butildimetilsililoxi)–5–metil–2–oxopirrolidin–1–il]–3–metilbenzonitrilo (500 mg) y solución de fluoruro de tetrabutilamonio–THF (1,4 mL, 1 mol/L) y de la misma manera que en el Ejemplo 15, se obtuvo el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 210 mg, 44%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,12 (3H, d, J = 6,6 Hz), 1,90 (1H, d, J = 4,2 Hz), 2,32 (3H, s), 2,59 (1H, dd, J = 17,4, 2,1 Hz), 2,87 (1H, dd, J = 17,4, 5,7 Hz), 4,10–4,30 (1H, br), 4,50–4,60 (1H, m), 7,00–7,20 (1H, m), 7,56 (1H, d, J = 8,1 Hz).

Punto de fusión: 172–173 °C.

Ejemplo 19

2–cloro–4–[(4R,5S)–3,3–difluoro–4–hidroxi–5–metil–2–oxopirrolidin–1–il]benzonitrilo



Usando 4–bromo–2–clorobenzonitrilo (556 mg), (4R,5S)–3,3–difluoro–4–hidroxi–5–metilpirrolidin–2–ona (448 mg), 4,5–bis(difenilfosfino)–9,9–dimetilxanteno (219 mg), tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0) (113 mg) y carbonato de cesio

(1,18 g) y de la misma manera que en el Ejemplo de referencia 3, se obtuvo el compuesto del título en forma de un polvo blanco (rendimiento: 34,2 mg, 5%).

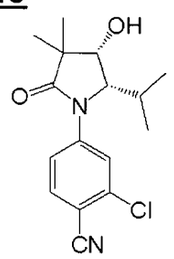
^{1}H–RMN (DMSO–d_6) δ: 1,38 (3H, d, J = 5,3 Hz), 2,79 (1H, brs), 4,36–4,72 (2H, m), 7,60 (1H, dd, J = 8,7, 1,7 Hz), 7,74 (1H, d, J = 8,7 Hz), 7,85 (1H, d, J = 1,7 Hz).

IR (KBr): 3427, 2233, 1730, 1598 cm^{-1}.

Punto de fusión: 126–127 °C.

Ejemplo 20

rac–2–cloro–4–[(4R,5R)–4–hidroxi–5–isopropil–3,3–dimetil–2–oxopirrolidin–1–il]benzonitrilo



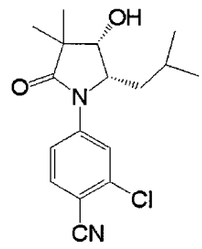
Usando 2–cloro–4–(5–isopropil–3,3–dimetil–2,4–dioxopirrolidin–1–il)benzonitrilo (300 mg) y solución de tri(sec–butil)borhidruro de litio–THF (1,48 mL, 1 mol/L) y de la misma manera que en el Ejemplo 5, se obtuvo el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 209 mg, 69%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,90 (3H, d, J = 7,0 Hz), 1,06 (3H, d, J = 7,0 Hz), 1,19 (3H, s), 1,29 (3H, s), 1,63 (1H, d, J = 5,3 Hz), 2,24–2,46 (1H, m), 4,07–4,26 (2H, m), 7,36 (1H, dd, J = 8,5, 2,1 Hz), 7,55 (1H, d, J = 2,1 Hz), 7,67 (1H, d, J = 8,5 Hz).

Punto de fusión: 119–121 °C.

Ejemplo 21

rac–2–cloro–4–[(4R,5R)–4–hidroxi–5–isobutil–3,3–dimetil–2–oxopirrolidin–1–il]benzonitrilo



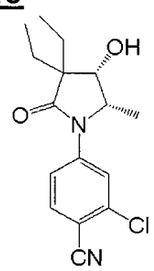
Usando 2–cloro–4–(5–isobutil–3,3–dimetil–2,4–dioxopirrolidin–1–il)benzonitrilo (620 mg) y solución de tri(sec–butil)borhidruro de litio–THF (2,92 mL, 1 mol/L) y de la misma manera que en el Ejemplo 5, se obtuvo el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 363 mg, 58%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,95 (3H, d, J = 6,6 Hz), 1,03 (3H, d, J = 6,4 Hz), 1,20 (3H, s), 1,31 (3H, s), 1,35–1,47 (1H, m), 1,64–1,90 (3H, m), 4,09 (1H, t, J = 4,8 Hz), 4,21–4,33 (1H, m), 7,31 (1H, d, J = 8,5 Hz), 7,55 (1H, s), 7,67 (1H, d, J = 8,5 Hz).

Punto de fusión: 224–226 °C.

Ejemplo 22

rac–2–cloro–4–[(4R,5R)–3,3–dietil–4–hidroxi–5–metil–2–oxopirrolidin–1–il]benzonitrilo



Usando 2–cloro–4–(3,3–dietil–5–metil–2,4–dioxopirrolidin–1–il)benzonitrilo (67 mg) y solución de tri(sec–butil)borhidruro de litio–THF (0,33 mL, 1 mol/L) y de la misma manera que en el Ejemplo 5, se obtuvo el compuesto del título en forma de cristales incoloros (rendimiento: 34,5 mg, 51%).

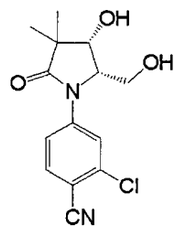
^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,92 (3H, t, J = 7,6 Hz), 1,02 (3H, t, J = 7,6 Hz), 1,30 (3H, d, J = 6,4 Hz), 1,57–1,95 (5H, m), 4,16 (1H, t, J = 5,3

Hz), 4,34–4,45 (1H, m), 7,41 (1H, dd, J = 8,6, 2,0 Hz), 7,63–7,69 (2H, m).

Punto de fusión: 166–168 °C.

Ejemplo 23

rac–2–cloro–4–[(4R,5R)–4–hidroxi–5–(hidroximetil)–3,3–dimetil–2–oxopirrolidin–1–il]benzonitrilo



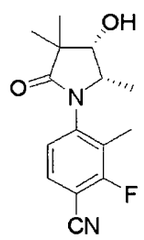
Usando 2–cloro–4–[5–(hidroximetil)–3,3–dimetil–2,4–dioxopirrolidin–1–il]benzonitrilo (80 mg) y solución de tri(sec–butil)borhidruro de litio–THF (0,82 mL, 1 mol/L) y de la misma manera que en el Ejemplo 5, se obtuvo el compuesto del título en forma de cristales incoloros (rendimiento: 45,4 mg, 56%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,24 (3H, s), 1,32 (3H, s), 2,40 (1H, t, J = 5,9 Hz), 2,66 (1H, d, J = 4,7 Hz), 3,90–4,07 (2H, m), 4,33–4,45 (2H, m), 7,48 (1H, dd, J = 8,5, 2,0 Hz), 7,68 (1H, d, J = 8,5 Hz), 7,72 (1H, d, J = 2,0 Hz).

Punto de fusión: 142–143 °C.

Ejemplo 24

rac–2–fluoro–4–[(4R,5R)–4–hidroxi–3,3,5–trimetil–2–oxopirrolidin–1–il]–3–metilbenzonitrilo



Usando 2–fluoro–3–metil–4–(3,3,5–trimetil–2,4–dioxopirrolidin–1–il)benzonitrilo (60 mg) y solución de tri(sec–butil)borhidruro de litio–THF (0,33 mL, 1 mol/L) y de la misma manera que en el Ejemplo 5, se obtuvo el compuesto del título en forma de cristales incoloros

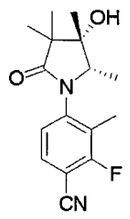
(rendimiento: 41,4 mg, 69%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,11 (3H, d, J = 6,6 Hz), 1,27 (3H, s), 1,31 (3H, s), 1,78 (1H, d, J = 4,3 Hz), 2,16 (3H, d, J = 2,5 Hz), 4,05 (1H, t, J = 4,4 Hz), 4,23–4,34 (1H, m), 6,97 (1H, d, J = 8,5 Hz), 7,45–7,52 (1H, m).

Punto de fusión: 177–178 °C.

Ejemplo 25

rac–2–fluoro–4–[(2R,3R)–3–hidroxi–2,3,4,4–tetrametil–5–oxopirrolidin–1–il]–3–metilbenzonitrilo



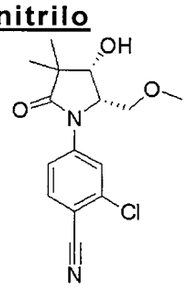
Usando 2–fluoro–3–metil–4–(3,3,5–trimetil–2,4–dioxopirrolidin–1–il)benzonitrilo (60 mg) y solución de bromuro de metilmagnesio–THF (2,19 mL, 1,0 mol/L) y de la misma manera que en el Ejemplo 2, se obtuvo el compuesto del título en forma de cristales incoloros (rendimiento: 40 mg, 63%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,02 (3H, d, J = 6,4 Hz), 1,18 (3H, brs), 1,22 (3H, s), 1,30 (3H, s), 1,43 (1H, brs), 2,18 (3H, brs), 4,04 (1H, brs), 6,83–7,15 (1H, m), 7,47 (1H, t, J = 7,6 Hz).

Punto de fusión: 174,5–175,5 °C.

Ejemplo 26

rac–2–cloro–4–[(4R,5R)–4–hidroxi–5–(metoximetil)–3,3–dimetil–2–oxopirrolidin–1–il]benzonitrilo



Usando 2–cloro–4–[5–(metoximetil)–3,3–dimetil–2,4–dioxopirrolidin–1–il]benzonitrilo (170 mg) y solución de tri(sec–

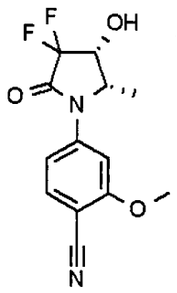
butil)borhidruro de litio–THF (0,83 mL, 1 mol/L) y de la misma manera que en el Ejemplo 5, se obtuvo el compuesto del título en forma de cristales incoloros (rendimiento: 142 mg, 83%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,23 (3H, s), 1,29 (3H, s), 2,84 (1H, d, J = 6,2 Hz), 3,31 (3H, s), 3,62–3,75 (2H, m), 4,27 (1H, t, J = 6,1 Hz), 4,39–4,48 (1H, m), 7,47 (1H, dd, J = 8,5, 2,0 Hz), 7,67 (1H, d, J = 8,5 Hz), 7,73 (1H, d, J = 2,0 Hz).

Punto de fusión: 130,5–131,5 °C.

Ejemplo 27

2–metoxi–4–[(4R,5S)–3,3–difluoro–4–hidroxi–5–metil–2–oxopirrolidin–1–il]benzonitrilo

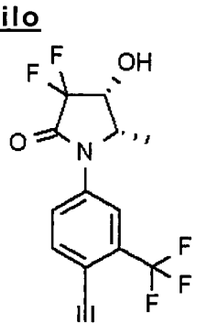


Usando 4–bromo–2–metoxibenzonitrilo (2,34 g), (4R,5S)–3,3–difluoro–4–hidroxi–5–metilpirrolidin–2–ona (2,00 g), 4,5–bis(difenilfosfino)–9,9–dimetilxanteno (976 mg), tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0) (504 mg) y carbonato de cesio (5,30 g) y de la misma manera que en el Ejemplo de referencia 18, se obtuvo el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 201 mg, 7%).

^{1}H–RMN (DMSO–d_6) δ: 1,16 (3H, d, J = 6,4 Hz), 3,94 (3H, s), 4,50–4,81 (2H, m), 7,36 (1H, dd, J = 8,5, 1,9 Hz), 7,57 (1H, dd, J = 1,9 Hz), 7,82 (1H, d, J = 8,5hz).

Ejemplo 28

2–trifluorometil–4–[(4R,5S)–3,3–difluoro–4–hidroxi–5–metil–2–oxopirrolidin–1–il]benzonitrilo



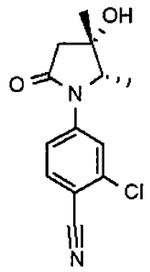
Usando 2–trifluorometil–4–yodobenzonitrilo (1,64 g), (4R,5S)–3,3–difluoro–4–hidroxi–5–metilpirrolidin–2–ona (1,00 g), 4,5–bis(difenilfosfino)–9,9–dimetilxanteno (488 mg), tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0) (303 mg) y carbonato de cesio (2,54 g) y de la misma manera que en el Ejemplo de referencia 18, se obtuvo el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 84,7 mg, 5%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,35–1,46 (3H, m), 2,77 (1H, brs), 4,47–4,73 (2H, m), 7,93 (2H, s), 8,05 (1H, s).

Punto de fusión: 128–131 °C.

Ejemplo 29

2–cloro–4–[(2S,3S)–3–hidroxi–2,3–dimetil–5–oxopirrolidin–1–il]benzonitrilo



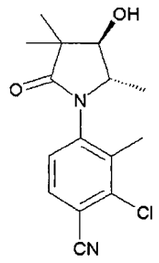
Usando 4–bromo–2–clorobenzonitrilo (615 mg), (4S,5S)–4–hidroxi–4,5–dimetilpirrolidin–2–ona (423 mg), 4,5–bis(difenilfosfino)–9,9–dimetilxanteno (241 mg), tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0) (125 mg) y carbonato de cesio (1,31 g) y de la misma manera que en el Ejemplo de referencia 18, se obtuvo el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 431 mg, 60%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,28 (3H, d, J = 6,4 Hz), 1,52 (3H, s), 2,01 (1H, s), 2,63 (1H, d, J = 17,0 Hz), 2,79 (1H, d, J = 17,0 Hz), 4,07 (1H, q, J = 6,4 Hz), 7,46 (1H, d, J = 8,7 Hz), 7,67 (1H, d, J = 8,7 Hz), 7,70 (1H, s).

Punto de fusión: 93–99 °C.

Ejemplo 30

rac–2–cloro–4–[(4R,5S)–4–hidroxi–3,3,5–trimetil–2–oxopirrolidin–1–il]–3–metilbenzonitrilo



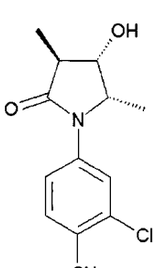
A una solución de rac–4–[(4R,5S)–4–(ter–butildimetilsililoxi)–3,3,5–trimetil–2–oxopirrolidin–1–il]–2–cloro–3–metilbenzonitrilo (103 mg) en THF (5 mL) se añadió solución de fluoruro de tetrabutilamonio–THF (1,00 mL, 1 mol/L) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 17 h. La mezcla de reacción se añadió al agua y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se lavó con salmuera saturada, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/acetato de etilo = 50/1→1/3) y se recristalizó en hexano–acetato de etilo para dar el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 41,4 mg, 28,4%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,11–1,25 (3H, m), 1,14 (3H, d, J = 6,0 Hz), 1,31 (3H, s), 1,93 (1H, d, J = 5,9 Hz), 2,27 (3H, s), 3,73–3,91 (2H, m), 7,03–7,18 (1H, m), 7,57 (1H, d, J = 8,3 Hz).

Punto de fusión: 148–149 °C.

Ejemplo 31

2–cloro–4–[(2S,3S,4S)–3–hidroxi–2,4–dimetil–5–oxopirrolidin–1–il]benzonitrilo



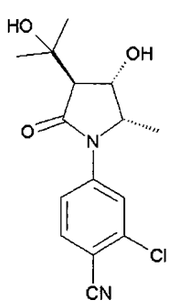
Una solución de diisopropilamina (0,150 mL) en THF (7 mL) se enfrió hasta –78 °C y una solución de n–butil–litio–hexano (0,648 mL, 1,6 mol/L) se añadió gota a gota. Después de completar la adición gota a gota, la mezcla se agitó a –78 °C durante 1 h. Posteriormente, una solución de 2–cloro–4–[(2S,3S)–3–hidroxi–2–metil–5–oxopirrolidin–1–il]benzonitrilo (100 mg) en THF (2,5 mL) se añadió gota a gota y la mezcla luego se agitó a –78 °C durante 30 min. Se agregó yoduro de metilo (0,124 mL) gota a gota a –78 °C y la mezcla luego se agitó de –10 °C a –78 °C durante 30 min. Se agregó ácido acético (1,0 mL) a la mezcla de reacción y la mezcla se calentó hasta temperatura ambiente. Se agregó agua y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se lavó con salmuera saturada, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/acetato de etilo = 10/1→1/3) para dar el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 44,4 mg, 42,0%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,30–1,36 (6H, m), 1,92 (1H, brs), 2,63–2,76 (1H, m), 4,11–4,25 (1H, m), 4,29–4,43 (1H, m), 7,61–7,67 (2H, m), 7,95 (1H, t, J = 1,2 Hz).

Punto de fusión: 149–151 °C.

Ejemplo 32

2–cloro–4–[(2S,3S,4R)–3–hidroxi–4–(1–hidroxi–1–metiletil)–2–metil–5–oxopirrolidin–1–il]benzonitrilo



Una solución de diisopropilamina (0,150 mL) en THF (7 mL) se enfrió hasta –78 °C y una solución de n–butil–litio–hexano (0,648 mL,

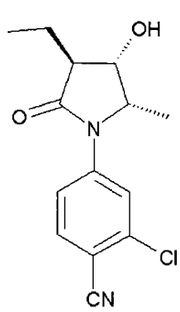
1,6 mol/L) se añadió gota a gota. Después de completar la adición gota a gota, la mezcla se agitó a –78 °C durante 1 h. Posteriormente, una solución de 2–cloro–4–[(2S,3S)–3–hidroxi–2–metil–5–oxopirrolidin–1–il]benzonitrilo (100 mg) en THF (1,5 mL) se añadió gota a gota y la mezcla luego se agitó a –78 °C durante 30 min. Se agregó acetona (0,124 mL) gota a gota a –78 °C y la mezcla luego se agitó de –20 °C a —78 °C durante 40 min. Se agregó ácido acético (1,0 mL) a la mezcla de reacción y la mezcla se calentó hasta temperatura ambiente. Se agregó agua y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se lavó con salmuera saturada, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/acetato de etilo = 10/1→1/3) para dar el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 30,1 mg, 24,5%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,32 (3H, d, J = 6,4 Hz), 1,37 (3H, s), 1,49 (3H, s), 2,72 (1H, d, J = 3,4 Hz), 2,81 (1H, d, J = 9,6 Hz), 2,91 (1H, brs), 4,33–4,49 (1H, m), 4,48–4,62 (1H, m), 7,56–7,70 (2H, m), 7,98 (1H, d, J = 2,1 Hz).

Punto de fusión: 131–132 °C.

Ejemplo 33

2–cloro–4–[(3S,4S,5S)–3–etil–4–hidroxi–5–metil–2–oxopirrolidin–1–il]benzonitrilo



Una solución de diisopropilamina (0,150 mL) en THF (8 mL) se enfrió hasta –78 °C y una solución de n–butil–litio–hexano (0,650 mL,

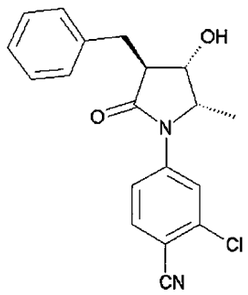
1,6 mol/L) se añadió gota a gota. Después de completar la adición gota a gota, la mezcla se agitó a –78 °C durante 1 h. Posteriormente, una solución de 2–cloro–4–[(2S,3S)–3–hidroxi–2–metil–5–oxopirrolidin–1–il]benzonitrilo (100 mg) en THF (2,0 mL) se añadió gota a gota y la mezcla luego se agitó a –78 °C durante 1 h. Se agregó yodoetano (0,150 mL) gota a gota a –78 °C y la mezcla luego se agitó de —78 °C a –30 °C durante 1 h. Se agregó ácido acético (1,0 mL) a la mezcla de reacción y la mezcla se calentó hasta temperatura ambiente. Se agregó agua y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se lavó con salmuera saturada, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/acetato de etilo = 20/1→ 1/4) para dar el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 6,7 mg, 6,0%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,10 (3H, t, J = 7,5 Hz), 1,32 (3H, d, J = 6,0 Hz), 1,61–1,80 (1H, m), 1,81–1,98 (2H, m), 2,53–2,66 (1H, m), 4,26–4,42 (2H, m), 7,56–7,70 (2H, m), 7,93 (1H, d, J = 1,5 Hz).

Punto de fusión: 109–110 °C.

Ejemplo 34

4–[(3S,4S,5S)–3–bencil–4–hidroxi–5–metil–2–oxopirrolidin–1–il]–2–clorobenzonitrilo



Una solución de diisopropilamina (0,150 mL) en THF (8 mL) se enfrió hasta –78 °C y una solución de n–butil–litio–hexano (0,648 mL, 1,6 mol/L) se añadió gota a gota. Después de completar la adición gota a gota, la mezcla se agitó a –78 °C durante 1 h. Posteriormente,

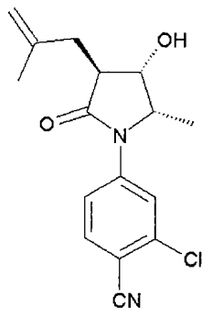
una solución de 2–cloro–4–[(2S,3S)–3–hidroxi–2–metil–5–oxopirrolidin–1–il]benzonitrilo (100 mg) en THF (2,5 mL) se añadió gota a gota y la mezcla luego se agitó a –78 °C durante 30 min. Una solución de bromuro de bencilo (0,16 mL) en THF (1,5 mL) se añadió gota a gota a –78 °C y la mezcla luego se agitó de —78 °C a –30 °C durante 1 h. Se agregó ácido acético (1,0 mL) a la mezcla de reacción y la mezcla se calentó hasta temperatura ambiente. Se agregó agua y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se lavó con salmuera saturada, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/acetato de etilo = 50/1 → 1/2) para dar el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 40,8 mg, 30,0%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,25 (3H, d, J = 6,6 Hz), 1,48 (1H, d, J = 4,2 Hz), 2,58–3,04 (2H, m), 3,25–3,36 (1H, m), 4,11–4,24 (1H, m), 4,25–4,36 (1H, m), 7,21–7,40 (5H, m), 7,51–7,61 (1H, m), 7,61–7,68 (1H, m), 7,88 (1H, d, J = 2,1 Hz).

Punto de fusión: 99–101 °C.

Ejemplo 35

2–cloro–4–[(2S,3S,4S)–3–hidroxi–2–metil–4–(2–metilprop–2–en–1–il)–5–oxopirrolidin–1–il]benzonitrilo



Una solución de diisopropilamina (0,300 mL) en THF (15 mL) se enfrió hasta –78 °C y una solución de n–butil–litio–hexano (1,26 mL, 1,6 mol/L) se añadió gota a gota. Después de completar la adición gota a gota, la mezcla se agitó a –78 °C durante 1 h. Posteriormente, una solución de 2–cloro–4–[(2S,3S)–3–hidroxi–2–

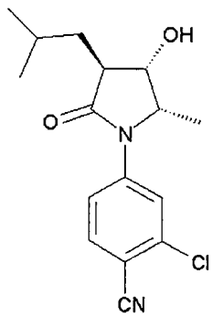
metil–5–oxopirrolidin–1–il]benzonitrilo (200 mg) en THF (4,0 mL) se añadió gota a gota y la mezcla luego se agitó a –78 °C durante 1 h. Se añadió 3–bromo–2–metilpropeno (0,10 mL) gota a gota a –78 °C y la mezcla luego se agitó de —78 °C a –10 °C durante 1 h. Se agregó ácido acético (1,0 mL) a la mezcla de reacción y la mezcla se calentó hasta temperatura ambiente. Se agregó agua y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se lavó con salmuera saturada, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/acetato de etilo = 30/1 → 1/2) para dar el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 111,8 mg, 46,1%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,32 (3H, d, J = 6,4 Hz), 1,84 (3H, s), 2,10 (1H, d, J = 3,6 Hz), 2,22 (1H, dd, J = 14,0, 10,4 Hz), 2,68–2,80 (1H, m), 2,86 (1H, ddd, J = 10,4, 8,3, 4,2 Hz), 4,26–4,46 (2H, m), 4,88–4,96 (2H, m), 7,59–7,69 (2H, m), 7,95 (1H, d, J = 0,9 Hz).

Punto de fusión: 110–112 °C.

Ejemplo 36

2–cloro–4–[(2S,3S,4S)–3–hidroxi–4–isobutil–2–metil–5–oxopirrolidin–1–il]benzonitrilo



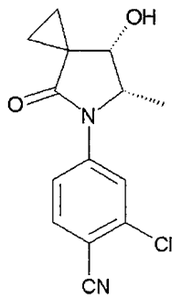
A una solución de 2–cloro–4–[(2S,3S,4S)–3–hidroxi–2–metil–4–(2–metilprop–2–en–1–il)–5–oxopirrolidin–1–il]benzonitrilo (22,3 mg) en metanol (3,0 mL) se añadió paladio/fibroína (12,0 mg) y la mezcla se agitó durante 48 h bajo una atmósfera de hidrógeno. La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo obtenido se purificó por cromatografía en columna de gel de

sílice (eluyente: hexano/acetato de etilo = 50/1→1/1) para dar el compuesto del título en forma de un aceite de color amarillo claro (rendimiento: 4,3 mg, 19,1%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,97–1,02 (6H, m), 1,32 (3H, d, J = 6,4 Hz), 1,35–1,53 (1H, m), 1,67–1,83 (1H, m), 1,90–2,16 (2H, m), 2,69 (1H, dt, J = 7,8, 6,0 Hz), 4,19–4,43 (2H, m), 7,54–7,72 (2H, m), 7,90 (1H, d, J = 1,9 Hz).

Ejemplo 37

rac–2–cloro–4–[(6R,7R)–7–hidroxi–6–metil–4–oxo–5–azaespiro[2.4]hept–5–il]benzonitrilo



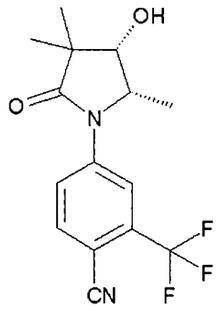
A una solución de rac–4–((6R,7R)–7–(ter–butildimetilsililoxi)–6–metil–4–oxo–5–azaespiro[2.4]hept–5–il)–2–clorobenzonitrilo (140 mg) en THF (5 mL) se añadió solución de fluoruro de tetrabutilamonio–THF (2,00 mL, 1 mol/L) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 18 h. La mezcla de reacción se añadió al agua y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se lavó con salmuera saturada, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/acetato de etilo = 1/0→3/1) para dar el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 32,3 mg, 32,5%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,93–1,08 (1H, m), 1,17–1,37 (3H, m), 1,37 (3H, d, J = 6,4 Hz), 1,61–1,72 (1H, m), 4,34 (1H, t, J = 6,0 Hz), 4,39–4,45 (1H, m), 7,51 (1H, dd, J = 8,6, 2,1 Hz), 7,66 (1H, d, J = 8,6 Hz), 7,76 (1H, d, J = 2,1 Hz).

Punto de fusión: 134–136 °C.

Ejemplo 38

4–[(4S,5S)–4–hidroxi–3,3,5–trimetil–2–oxopirrolidin–1–il]–2–(trifluorometil)benzonitrilo



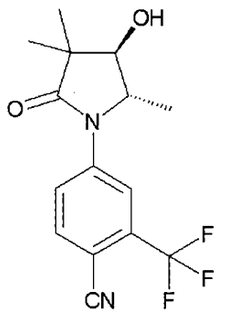
A una solución de 4–((4S,5S)–4–(ter–butildimetilsililoxi)–3,3,5–trimetil–2–oxopirrolidin–1–il)–2–(trifluorometil)benzonitrilo (232,2 mg) en THF (6 mL) se añadió solución de fluoruro de tetrabutilamonio–THF (2,0 mL, 1 mol/L) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla de reacción se añadió al agua y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se lavó con salmuera saturada, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/acetato de etilo = 30/1→1/3) y se recristalizó en hexano–acetato de etilo para dar el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 38,9 mg, 22,9%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,24 (3H, s), 1,31–1,36 (6H, m), 1,80 (1H, d, J = 5,1 Hz), 4,12 (1H, t, J = 5,3 Hz), 4,42–4,53 (1H, m), 7,75 (1H, dd, J = 8,7, 2,3 Hz), 7,85 (1H, d, J = 8,7 Hz), 7,93 (1H, d, J = 2,3 Hz).

Punto de fusión: 120–121 °C.

Ejemplo 39

4–[(4R,5S)–4–hidroxi–3,3,5–trimetil–2–oxopirrolidin–1–il]–2–(trifluorometil)benzonitrilo

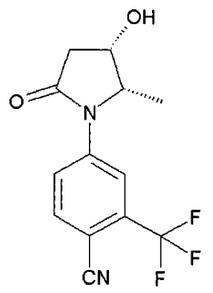


A una solución mixta de 4–[(4R,5S)–4–(ter–butildimetilsililoxi)–3,3,5–trimetil–2–oxopirrolidin–1–il)]–2–(trifluorometil)benzonitrilo (391,7 mg) en THF (12 mL) y metanol (12 mL) se añadieron 6 mol/L de ácido clorhídrico (12,0 mL) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. La mezcla de reacción se añadió a carbonato hidrogenado de sodio acuoso saturado y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se lavó con salmuera saturada, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/acetato de etilo = 10/1→1/3) para dar el compuesto del título en forma de un aceite incoloro (rendimiento: 203,6 mg, 66%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,18 (3H, s), 1,33 (3H, s), 1,39 (3H, d, J = 6,2 Hz), 1,98 (1H, d, J = 5,8 Hz), 3,82 (1H, t, J = 5,8 Hz), 3,96–4,09 (1H, m), 7,11 (1H, dd, J = 8,5, 2,1 Hz), 7,85 (1H, d, J = 8,5 Hz), 7,91 (1H, d, J = 2,1 Hz).

Ejemplo 40

4–[(2S,3S)–3–hidroxi–2–metil–5–oxopirrolidin–1–il]–2–(trifluorometil)benzonitrilo

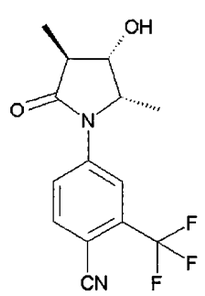


A una solución de 4–[(2S,3S)–3–(ter–butildimetilsililoxi)–2–metil–5–oxopirrolidin–1–il]–2–(trifluorometil)benzonitrilo (5,61 g) en THF (50 mL) se añadió solución de fluoruro de tetrabutilamonio–THF (20,0 mL, 1 mol/L) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 24 h. La mezcla de reacción se añadió al agua y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se lavó con salmuera saturada, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/acetato de etilo = 30/1→1/3) para dar el compuesto del título en forma de un aceite incoloro (rendimiento: 1,42 g, 35%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,34 (3H, d, J = 6,6 Hz), 1,84 (1H, d, J = 4,7 Hz), 2,71 (1H, dd, J = 17,4, 5,4 Hz), 2,88 (1H, dd, J = 17,4, 6,8 Hz), 4,37–4,50 (1H, m), 4,57–4,70 (1H, m), 7,77–7,89 (2H, m), 7,92–7,98 (1H, m).

Ejemplo 41

4–[(2S,3S,4S)–3–hidroxi–2,4–dimetil–5–oxopirrolidin–1–il]–2–(trifluorometil)benzonitrilo



Una solución de diisopropilamina (0,860 mL) en THF (30 mL) se enfrió hasta –78 °C y se añadió solución de n–butil–litio–hexano

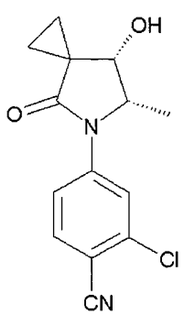
(3,64 mL, 1,6 mol/L) gota a gota. Después de completar la adición gota a gota, la mezcla se agitó a –78 °C durante 1 h. Posteriormente, una solución de 4–[(2S,3S)–3–hidroxi–2–metil–5–oxopirrolidin–1–il]–2–(trifluorometil)benzonitrilo (661 mg) en THF (5,0 mL) se añadió gota a gota y la mezcla luego se agitó a –78 °C durante 1 h. Se añadió yodometano (0,75 mL) gota a gota a –78 °C y la mezcla luego se agitó a –78 °C durante 1 h. Se agregó ácido acético (3,0 mL) a la mezcla de reacción y la mezcla se calentó hasta temperatura ambiente. Se agregó agua y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se lavó con salmuera saturada, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/acetato de etilo = 10/1→1/3) para dar el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 442,9 mg, 63,7%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,34 (3H, d, J = 6,9 Hz), 1,35 (3H, d, J = 6,4 Hz), 1,95–2,06 (1H, m), 2,64–2,81 (1H, m), 4,21 (1H, ddd, J = 9,2, 7,2, 5,4 Hz), 4,35–4,51 (1H, m), 7,77–7,87 (1H, m), 7,90–8,00 (1H, m), 8,20 (1H, d, J = 2,3 Hz).

Punto de fusión: 82–85 °C.

Ejemplo 42

2–cloro–4–[(6S,7S)–7–hidroxi–6–metil–4–oxo–5–azaespiro[2.4]hept–5–il]benzonitrilo



A una solución de 4–[(6S,7S)–7–(ter–butildimetilsililoxi)–6–metil–4–oxo–5–azaespiro[2.4]hept–5–il]–2–clorobenzonitrilo (89,0 mg) en un solvente mixto de THF (6 mL) y metanol (6 mL) se

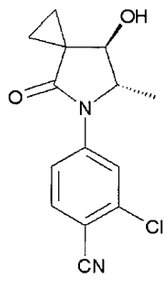
añadieron 6 mol/L de ácido clorhídrico (4,0 mL) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 18 h. La mezcla de reacción se añadió a carbonato hidrogenado de sodio acuoso saturado y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se lavó con salmuera saturada, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice y se recristalizó en hexano–acetato de etilo para dar el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 48,7 mg, 66%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,93–1,08 (1H, m), 1,17–1,37 (3H, m), 1,37 (3H, d, J = 6,4 Hz), 1,61–1,72 (1H, m), 4,34 (1H, t, J = 6,0 Hz), 4,39–4,45 (1H, m), 7,51 (1H, dd, J = 8,6, 2,1 Hz), 7,66 (1H, d, J = 8,6 Hz), 7,76 (1H, d, J = 2,1 Hz).

Punto de fusión: 164–166 °C.

Ejemplo 43

2–cloro–4–[(6S,7R)–7–hidroxi–6–metil–4–oxo–5–azaespiro[2.4]hept–5–il]benzonitrilo



A una solución de 4–[(6S,7R)–7–(ter–butildimetilsililoxi)–6–metil–4–oxo–5–azaespiro[2.4]hept–5–il]–2–clorobenzonitrilo (65,7 mg) en un solvente mixto de THF (6 mL) y metanol (6 mL) se añadieron 6 mol/L de ácido clorhídrico (4,0 mL) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla de reacción se añadió a carbonato hidrogenado de sodio acuoso saturado y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se lavó con salmuera saturada, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por

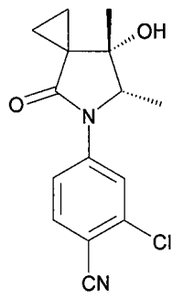
cromatografía en columna de gel de sílice y se recristalizó en hexano–acetato de etilo para dar el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 42,0 mg, 90%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,07–1,47 (4H, m), 1,39 (3H, d, J = 6,6 Hz), 1,85–1,95 (1H, m), 3,77 (1H, d, J = 3,8 Hz), 4,33 (1H, q, J = 6,6 Hz), 7,59–7,71 (2H, m), 7,99–8,01 (1H, m).

Punto de fusión: 169–172 °C.

Ejemplo 44

2–cloro–4–[(6S,7S)–7–hidroxi–6,7–dimetil–4–oxo–5–azaespiro[2.4]hept–5–il]benzonitrilo



A una solución de 2–cloro–4–[(6S)–6–metil–4,7–dioxo–5–azaespiro[2.4]hept–5–il]benzonitrilo (35 mg) en tetrahidrofurano (6,0 mL) se añadió gota a gota solución de 1 mol/L–bromuro de metilmagnesio/tetrahidrofurano (1,3 mL) bajo enfriamiento con hielo y la mezcla se agitó a la misma temperatura durante 1 h. Se añadió salmuera a la mezcla de reacción y la mezcla se extrajo con acetato de etilo.

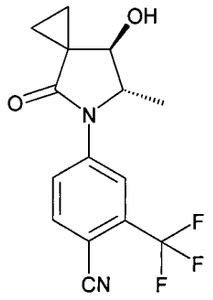
El extracto se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente:hexano/acetato de etilo = 10/1→1/3) para dar el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 27,5 mg, 74%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,92–1,05 (1H, m), 1,07–1,32 (3H, m), 1,29 (3H, s), 1,35 (3H, d, J = 6,4 Hz), 1,44 (1H, s), 4,14 (1H, q, J = 6,4 Hz), 7,51 (1H, dd, J = 8,5, 2,1 Hz), 7,66 (1H, d, J = 8,5 Hz), 7,75 (1H, d, J = 2,1 Hz).

Punto de fusión: 150–152 °C.

Ejemplo 45

4–[(6S,7R)–7–hidroxi–6–metil–4–oxo–5–azaespiro[2.4]hept–5–il]–2–(trifluorometil)benzonitrilo



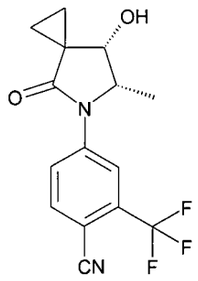
A una solución de 4–[(6S,7R)–7–(ter–butildimetilsililoxi)–6–metil–4–oxo–5–azaespiro[2.4]hept–5–il]–2–(trifluorometil)benzonitrilo (670 mg) en tetrahidrofurano (12 mL)–metanol (6 mL) se añadieron 6 mol/L de ácido clorhídrico (5 mL) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Se añadió carbonato hidrogenado de sodio acuoso saturado a la mezcla de reacción y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/acetato de etilo = 30/1→1/3) para dar el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 381,9 mg, 78%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,08–1,24 (2H, m), 1,41 (3H, d, J = 6,6 Hz), 1,31–1,45 (2H, m), 1,91 (1H, d, J = 1,7 Hz), 3,80 (1H, d, J = 4,7 Hz), 4,39 (1H, q, J = 6,7 Hz), 7,81 (1H, d, J = 8,5 Hz), 7,96 (1H, d, J = 8,5 Hz), 8,27 (1H, s).

Punto de fusión: 109–110 °C.

Ejemplo 46

4–[(6S,7S)–7–hidroxi–6–metil–4–oxo–5–azaespiro[2.4]hept–5–il]–2–(trifluorometil)benzonitrilo



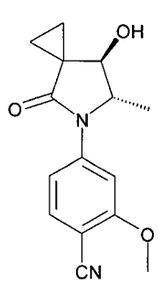
A una solución de 4–[(6S,7S)–7–(ter–butildimetilsililoxi)–6–metil–4–oxo–5–azaespiro[2.4]hept–5–il]–2–(trifluorometil)benzonitrilo (309,4 mg) en tetrahidrofurano (3 mL)–metanol (3 mL) se añadieron 6 mol/L de ácido clorhídrico (3 mL) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 18 h. Se añadió carbonato hidrogenado de sodio acuoso saturado a la mezcla de reacción y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/acetato de etilo = 30/1→1/3) para dar el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 152,3 mg, 67%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,97–1,10 (1H, m), 1,20–1,36 (3H, m), 1,37 (3H, d, J = 6,4 Hz), 1,66 (1H, d, J = 6,4 Hz), 4,36 (1H, t, J = 6,2 Hz), 4,48–4,61 (1H, m), 7,76–7,88 (2H, m), 8,02 (1H, d, J = 2,1 Hz).

Punto de fusión: 155–156 °C.

Ejemplo 47

4–[(6S,7R)–7–hidroxi–6–metil–4–oxo–5–azaespiro[2.4]hept–5–il]–2–metoxibenzonitrilo



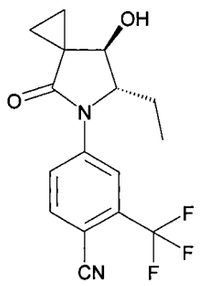
A una solución de 4–[(6S,7R)–7–(ter–butildimetilsililoxi)–6–metil–4–oxo–5–azaespiro[2.4]hept–5–il]–2–metoxibenzonitrilo (320 mg) en tetrahidrofurano (8 mL)–metanol (8 mL) se añadieron 6 mol/L de ácido clorhídrico (6 mL) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Se añadió carbonato hidrogenado de sodio acuoso saturado a la mezcla de reacción y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/acetato de etilo = 30/1→1/3) para dar el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 49,7 mg, 22%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,10–1,21 (2H, m), 1,30–1,42 (2H, m), 1,39 (3H, d, J = 6,6 Hz), 1,78 (1H, d, J = 5,1 Hz), 3,77 (1H, d, J = 5,1 Hz), 3,93 (3H, s), 4,31–4,41 (1H, m), 6,90 (1H, dd, J = 8,5, 2,1 Hz), 7,54 (1H, d, J = 8,5 Hz), 7,97 (1H, d, J = 2,1 Hz).

Punto de fusión: 167–169 °C.

Ejemplo 48

4–[(6S,7R)–6–etil–7–hidroxi–4–oxo–5–azaespiro[2.4]hept–5–il]–2–(trifluorometil)benzonitrilo



A una solución de 4–[(6S,7R)–7–(ter–butildimetilsililoxi)–6–etil–4–oxo–5–azaespiro[2.4]hept–5–il]–2–(trifluorometil)benzonitrilo (433,7 mg) en tetrahidrofurano (6 mL)–metanol (12 mL) se añadieron 6 mol/L de ácido clorhídrico (5 mL) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 18 h. Se añadió carbonato hidrogenado de sodio acuoso saturado a la mezcla de reacción y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se secó sobre

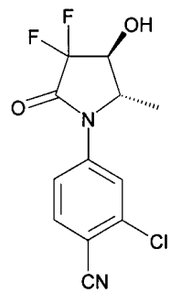
sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/acetato de etilo = 30/1→1/2) para dar el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 266,1 mg, 83%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,01 (3H, t, J = 7,5 Hz), 1,15–1,24 (2H, m), 1,35–1,45 (2H, m), 1,59–1,72 (1H, m), 1,74–1,89 (2H, m), 3,89 (1H, d, J = 4,9 Hz), 4,25 (1H, dd, J = 8,9,2,8 Hz), 7,82 (1H, d, J = 8,7 Hz), 7,92 (1H, dd, J = 8,7, 2,1 Hz), 8,25 (1H, d, J = 2,1 Hz).

Punto de fusión: 106–110 °C.

Ejemplo 49

2–cloro–4–[(4S,5S)–3,3–difluoro–4–hidroxi–5–metil–2–oxopirrolidin–1–il]benzonitrilo



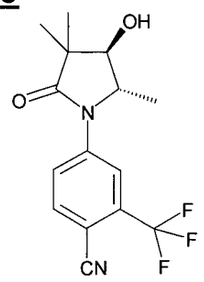
A una solución de (4S,5S)–1–(3–cloro–4–yodofenil)–3,3–difluoro–4–hidroxi–5–metilpirrolidin–2–ona (113 mg) en DMF (3,5 mL) se añadieron cianuro de cinc (12 mg) y tetrakis(trifenilfosfina)paladio(0) (34 mg) y la mezcla se agitó a 100 °C durante 4 h. Se agregó agua a la mezcla de reacción y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente:hexano/acetato de etilo = 30/1→1/2) para dar el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 75 mg, 90%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,44 (3H, dd, J = 6,6, 1,5 Hz), 2,38–2,46 (1H, m), 4,15–4,23 (1H, m), 4,23–4,30 (1H, m), 7,62 (1H, dd, J = 8,7, 2,1 Hz), 7,74 (1H, d, J = 8,7 Hz), 7,86 (1H, d, J = 2,1 Hz).

Punto de fusión: 133–139 °C.

Ejemplo 50

4–[(4R,5S)–4–hidroxi–3,3,5–trimetil–2–oxopirrolidin–1–il]–2–(trifluorometil)benzonitrilo

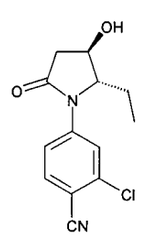


A una solución de 4–[(4R,5S)–4–(ter–butildimetilsililoxi)–3,3,5–trimetil–2–oxopirrolidin–1–il]–2–(trifluorometil)benzonitrilo (391,7 mg) en tetrahidrofurano (12 mL)–metanol (12 mL) se añadieron 6 mol/L de ácido clorhídrico (12 mL) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. Se agregó agua a la mezcla de reacción y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/acetato de etilo = 10/1→1/3) para dar el compuesto del título en forma de un aceite incoloro (rendimiento: 203,6 mg, 71%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,18 (3H, s), 1,33 (3H, s), 1,39 (3H, d, J = 6,2 Hz), 1,98 (1H, d, J = 5,8 Hz), 3,82 (1H, t, J = 5,8 Hz), 3,96–4,09 (1H, m), 7,11 (1H, dd, J = 8,5, 2,1 Hz), 7,85 (1H, d, J = 8,5 Hz), 7,91 (1H, d, J = 2,1 Hz).

Ejemplo 51

2–cloro–4–[(2S,3R)–2–etil–3–hidroxi–5–oxopirrolidin–1–il]benzonitrilo



A una solución de 4–[(2S,3R)–3–(ter–butildimetilsililoxi)–2–etil–5–oxopirrolidin–1–il]–2–clorobenzonitrilo (366 mg) en

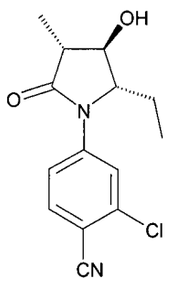
tetrahidrofurano (5 mL)–metanol (5 mL) se añadieron 6 mol/L de ácido clorhídrico (5 mL) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 18 h. Se añadió carbonato hidrogenado de sodio acuoso saturado a la mezcla de reacción y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente:hexano/acetato de etilo = 10/1→1/3) para dar el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 221,2 mg, 87%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,00 (3H, t, J = 7,5 Hz), 1,41–1,59 (1H, m), 1,69–1,85 (1H, m), 1,97 (1H, brs), 2,55 (1H, dd, J = 18,0, 1,2 Hz), 3,01 (1H, dd, J = 18,0, 5,9 Hz), 4,08 (1H, dd, J = 9,3, 3,0 Hz), 4,32–4,40 (1H, m), 7,59 (1H, dd, J = 8,7, 2,1 Hz), 7,66 (1H, d, J = 8,7 Hz), 7,91 (1H, d, J = 2,1 Hz).

Punto de fusión: 118–120 °C.

Ejemplo 52

2–cloro–4–[(2S,3R,4R)–2–etil–3–hidroxi–4–metil–5–oxopirrolidin–1–il]benzonitrilo



Una solución de diisopropilamina (0,208 mL) en tetrahidrofurano (8 mL) se enfrió hasta –78 °C, se añadió solución de n–butil–litio–hexano (0,885 mL, 1,6 mol/L) gota a gota y la mezcla se agitó durante 1 h. Una solución de 2–cloro–4–[(2S,3R)–2–etil–3–hidroxi–5–oxopirrolidin–1–il]benzonitrilo (145,5 mg) en tetrahidrofurano (2 mL) se añadió gota a gota y la mezcla se agitó a –78 °C durante 1 h. Una solución de yodometano (0,176 mL) en tetrahidrofurano (2 mL) se añadió gota a gota a –78 °C y la mezcla se agitó a –78 °C durante 30 min y a 0 °C durante 30 min. Se agregó

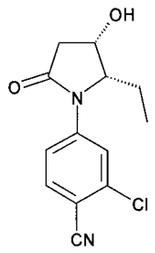
agua a la mezcla de reacción y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/acetato de etilo = 50/1→1/3) para dar el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 57,0 mg, 37%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,90 (3H, t, J = 7,5 Hz), 1,39 (3H, d, J = 7,4 Hz), 1,48–1,65 (1H, m), 1,80–1,95 (1H, m), 2,25 (1H, d, J = 4,5 Hz), 2,55–2,67 (1H, m), 3,89–3,99 (2H, m), 7,42 (1H, dd, J = 8,5, 2,0 Hz), 7,67 (1H, d, J = 8,5 Hz), 7,69 (1H, d, J = 2,0 Hz).

Punto de fusión: 120–123 °C.

Ejemplo 53

2–cloro–4–[(2S,3S)–2–etil–3–hidroxi–5–oxopirrolidin–1–il]benzonitrilo



A una solución de 4–[(2S,3S)–3–(ter–butildimetilsililoxi)–2–etil–5–oxopirrolidin–1–il]–2–clorobenzonitrilo (550 mg) en tetrahidrofurano (3 mL)–metanol (3 mL) se añadieron 6 mol/L de ácido clorhídrico (4 mL) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 72 h. Se añadió carbonato hidrogenado de sodio acuoso saturado a la mezcla de reacción y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente:hexano/acetato de etilo = 10/1→1/3) para dar el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 93,3 mg, 24%).

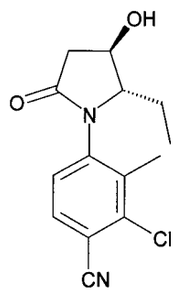
^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,02 (3H, t, J = 7,3 Hz), 1,69–1,82 (3H, m), 2,67 (1H, dd, J = 16,8,3,9 Hz), 2,85 (1H, dd, J = 16,8,6,9 Hz), 4,06–4,18 (1H, m), 4,62–4,73 (1H, m), 7,40 (1H, d, J = 8,5 Hz), 7,59–7,72

(2H, m).

Punto de fusión: 138–140 °C.

Ejemplo 54

2–cloro–4–[(2S,3R)–2–etil–3–hidroxi–5–oxopirrolidin–1–il]–3–metilbenzonitrilo



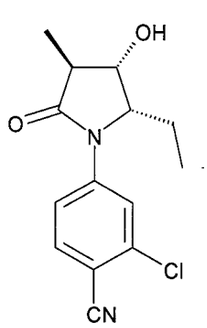
A una solución de 4–[(2S,3R)–3–(ter–butildimetilsililoxi)–2–etil–5–oxopirrolidin–1–il]–2–cloro–3–metilbenzonitrilo (650 mg) en tetrahidrofurano (20 mL)–metanol (10 mL) se añadieron 6 mol/L de ácido clorhídrico (10 mL) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 18 h. Se añadió carbonato hidrogenado de sodio acuoso saturado a la mezcla de reacción y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente:hexano/acetato de etilo = 10/1→1/9) para dar el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 227,1 mg, 49%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,91 (3H, t, J = 7,4 Hz), 1,33–1,50 (1H, m), 1,51–1,68 (1H, m), 2,31 (3H, s), 2,44–2,55 (1H, m), 2,50 (1H, dd, J = 17,6, 2,4 Hz), 2,94 (1H, dd, J = 17,6, 6,2 Hz), 3,69–3,82 (1H, m), 4,31–4,41 (1H, m), 7,18 (1H, d, J = 8,3 Hz), 7,56 (1H, d, J = 8,3 Hz).

Punto de fusión: 153–155 °C.

Ejemplo 55

2–cloro–4–[(2S,3S,4S)–2–etil–3–hidroxi–4–metil–5–oxopirrolidin–1–il]benzonitrilo



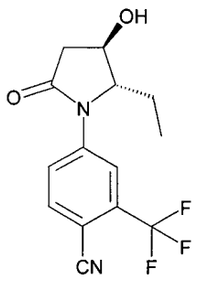
A una solución de diisopropilamina (0,111 mL) en tetrahidrofurano (5 mL) se añadió gota a gota solución de n–butil–litio–hexano (0,472 mL, 1,6 mol/L) a –78 °C, la mezcla se agitó durante 1 h y una solución de 2–cloro–4–[(2S,3S)–2–etil–3–hidroxi–5–oxopirrolidin–1–il]benzonitrilo (80 mg) en tetrahidrofurano (3 mL) se añadió gota a gota. La mezcla se agitó a –78 °C durante 30 min, se añadió yodometano (0,100 mL) gota a gota a –78 °C y la mezcla se agitó a 0 °C durante 2 h. Se agregó ácido acético (0,500 mL) gota a gota a la mezcla de reacción, se añadió agua y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/acetato de etilo = 50/1→1/3) para dar el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 10,8 mg, 13%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,00 (3H, t, J = 7,5 Hz), 1,30 (3H, d, J = 7,2 Hz), 1,60–1,80 (1H, m), 1,80–1,99 (1H, m), 2,34 (1H, brs), 2,65–2,81 (1H, m), 4,08–4,31 (2H, m), 7,54 (1H, d, J = 8,5 Hz), 7,65 (1H, d, J = 8,5 Hz), 7,86 (1H, s).

Punto de fusión: 121–125 °C.

Ejemplo 56

4–[(2S,3R)–2–etil–3–hidroxi–5–oxopirrolidin–1–il]–2–(trifluorometil)benzonitrilo



A una solución de 4–[(2S,3R)–3–(ter–butildimetilsililoxi)–2–etil–5–oxopirrolidin–1–il]–2–(trifluorometil)benzonitrilo (1,32 g) en tetrahidrofurano (30 mL)–etanol (15 mL) se añadieron 6 mol/L de ácido clorhídrico (15 mL) y la mezcla se agitó a temperatura

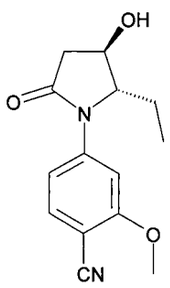
ambiente durante 18 h. Se añadió carbonato hidrogenado de sodio acuoso saturado a la mezcla de reacción y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente:hexano/acetato de etilo = 6/1→1/9) para dar el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 507,3 mg, 53%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,00 (3H, t, J = 7,5 Hz), 1,41–1,59 (1H, m), 1,69–1,85 (1H, m), 1,97 (1H, brs), 2,55 (1H, dd, J = 18,0, 1,2 Hz), 3,01 (1H, dd, J = 18,0, 5,9 Hz), 4,08 (1H, dd, J = 9,3,3,0 Hz), 4,32–4,40 (1H, m), 7,59 (1H, dd, J = 8,7, 2,1 Hz), 7,66 (1H, d, J = 8,7 Hz), 7,91 (1H, d, J = 2,1 Hz).

Punto de fusión: 116–118 °C.

Ejemplo 57

4–[(2S,3R)–2–etil–3–hidroxi–5–oxopirrolidin–1–il]–2–metoxibenzonitrilo



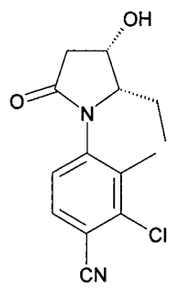
A una solución de 4–[(2S,3R)–3–(ter–butildimetilsililoxi)–2–etil–5–oxopirrolidin–1–il]–2–metoxibenzonitrilo (1,04 g) en tetrahidrofurano (30 mL)–etanol (15 mL) se añadieron 6 mol/L de ácido clorhídrico (15 mL) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 18 h. Se añadió carbonato hidrogenado de sodio acuoso saturado a la mezcla de reacción y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente:hexano/acetato de etilo = 5/1→0/1) para dar el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 528,3 mg, 73%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,99 (3H, t, J = 7,6 Hz), 1,40–1,61 (1H, m), 1,70–1,87 (1H, m), 2,01 (1H, d, J = 4,2 Hz), 2,55 (1H, dd, J = 18,0, 1,3 Hz), 3,01 (1H, dd, J = 18,0, 6,0 Hz), 3,94 (3H, s), 4,08 (1H, dd, J = 9,3,2,8 Hz), 4,30–4,39 (1H, m), 6,87 (1H, dd, J = 8,5, 2,1 Hz), 7,53 (1H, d, J = 8,5 Hz), 7,76 (1H, d, J = 2,1 Hz)

Punto de fusión: 138–141 °C.

Ejemplo 58

2–cloro–4–[(2S,3S)–2–etil–3–hidroxi–5–oxopirrolidin–1–il]–3–metilbenzonitrilo



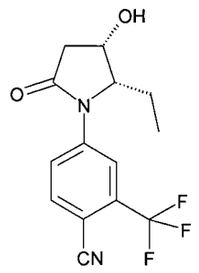
A una solución de 4–[(2S,3S)–3–(ter–butildimetilsililoxi)–2–etil–5–oxopirrolidin–1–il]–2–cloro–3–metilbenzonitrilo (134,5 mg) en tetrahidrofurano (10 mL)–metanol (5 mL) se añadieron 6 mol/L de ácido clorhídrico (5 mL) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 18 h. Se añadió carbonato hidrogenado de sodio acuoso saturado a la mezcla de reacción y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente:hexano/acetato de etilo = 10/1→1/4) para dar el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 66,2 mg, 69%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,94 (3H, t, J = 7,4 Hz), 1,29–1,50 (1H, m), 1,55–1,77 (1H, m), 1,72 (1H, brs), 2,32 (3H, brs), 2,58 (1H, d, J = 17,4 Hz), 2,85 (1H, dd, J = 17,4, 5,3 Hz), 3,84–4,05 (1H, m), 4,57–4,68 (1H, m), 6,99–7,17 (1H, m), 7,56 (1H, d, J = 8,3 Hz).

Punto de fusión: 142–146 °C.

Ejemplo 59

4–[(2S,3S)–2–etil–3–hidroxi–5–oxopirrolidin–1–il]–2–(trifluorometil)benzonitrilo



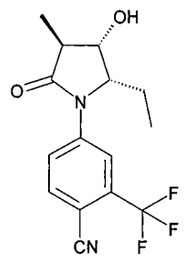
A una solución de 4–[(2S,3S)–3–(ter–butildimetilsililoxi)–2–etil–5–oxopirrolidin–1–il]–2–(trifluorometil)benzonitrilo (7,76 g) en tetrahidrofurano (60 mL)–etanol (30 mL) se añadieron 6 mol/L de ácido clorhídrico (60 mL) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 18 h. Se añadió carbonato hidrogenado de sodio acuoso saturado a la mezcla de reacción y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente:hexano/acetato de etilo = 50/1→1/4) y el sólido obtenido se recristalizó en acetato de etilo/hexano para dar el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 2,36 g, 42%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,03 (3H, t, J = 7,5 Hz), 1,70–1,86 (3H, m), 2,70 (1H, dd, J = 17,4, 4,0 Hz), 2,87 (1H, dd, J = 17,4, 6,6 Hz), 4,15–4,24 (1H, m), 4,66–4,75 (1H, m), 7,73 (1H, dd, J = 8,5, 2,1 Hz), 7,85 (1H, d, J = 8,5 Hz), 7,86 (1H, d, J = 2,1 Hz).

Punto de fusión: 111–112 °C.

Ejemplo 60

4–[(2S,3S,4S)–2–etil–3–hidroxi–4–metil–5–oxopirrolidin–1–il]–2–(trifluorometil)benzonitrilo



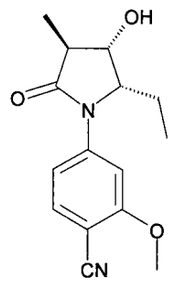
A una solución de diisopropilamina (0,603 mL) en tetrahidrofurano (8 mL) se añadió gota a gota solución de n–butil–litio–hexano (2,56 mL, 1,6 mol/L) a –78 °C, la mezcla se agitó durante 1 h y una solución de 4–[(2S,3S)–2–etil–3–hidroxi–5–oxopirrolidin–1–il]–2–(trifluorometil)benzonitrilo (490 mg) en tetrahidrofurano (6 mL) se añadió gota a gota. La mezcla se agitó a –78 °C durante 30 min, se añadió yodometano (0,510 mL) gota a gota a –78 °C y la mezcla se agitó a 0 °C durante 1 h. Se añadió solución acuosa de cloruro de amonio a la mezcla de reacción y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/acetato de etilo = 30/1→1/4) y luego se purificó por cromatografía en gel de sílice básica (eluyente: hexano/acetato de etilo = 30/1→1/4) para dar el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 66,5 mg, 13%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,01 (3H, t, J = 7,5 Hz), 1,32 (3H, d, J = 7,2 Hz), 1,64–1,81 (1H, m), 1,83–2,00 (2H, m), 2,62–2,82 (1H, m), 4,19–4,37 (2H, m), 7,82 (1H, d, J = 8,5 Hz), 7,89 (1H, dd, J = 8,5, 2,1 Hz), 8,09 (1H, d, J = 2,1 Hz).

Punto de fusión: 113–119 °C.

Ejemplo 61

4–[(2S,3S,4S)–2–etil–3–hidroxi–4–metil–5–oxopirrolidin–1–il]–2–metoxibenzonitrilo



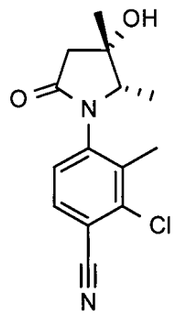
A una solución de diisopropilamina (0,291 mL) en tetrahidrofurano (8 mL) se añadió gota a gota solución de n–butil–litio–hexano (1,24 mL, 1,6 mol/L) a –78 °C, la mezcla se agitó durante 1 h y una solución de 4–[(2S,3S)–2–etil–3–hidroxi–5–oxopirrolidin–1–il]–2–metoxibenzonitrilo (206,5 mg) en tetrahidrofurano (6 mL) se añadió gota a gota. La mezcla se agitó a –78 °C durante 30 min, se añadió yodometano (0,247 mL) gota a gota a –78 °C y la mezcla se agitó a 0 °C durante 1 h. Se añadió solución acuosa de cloruro de amonio a la mezcla de reacción y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/acetato de etilo = 30/1→1/4) para dar el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (rendimiento: 108,8 mg, 50%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,00 (3H, t, J = 7,5 Hz), 1,31 (3H, d, J = 7,2 Hz), 1,62–1,82 (1H, m), 1,81–2,00 (1H, m), 1,91 (1H, d, J = 5,1 Hz), 2,65–2,79 (1H, m), 3,93 (3H, s), 4,15–4,33 (2H, m), 6,84 (1H, dd, J = 8,5, 1,9 Hz), 7,53 (1H, d, J = 8,5 Hz), 7,72 (1H, d, J = 1,9 Hz).

Punto de fusión: 78–81 °C.

Ejemplo 62

2–cloro–4–[(2S,3S)–3–hidroxi–2,3–dimetil–5–oxopirrolidin–1–il]–3–metilbenzonitrilo



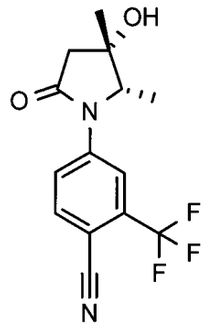
Una solución de 2–cloro–4–yodo–3–metilbenzonitrilo (1,29 g), (4S,5S)–4–hidroxi–4,5–dimetilpirrolidin–2–ona (500 mg), 4,5–bis(difenilfosfino)–9,9–dimetilxanteno (343 mg), tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0) (177 mg) y carbonato de cesio (1,86 g) en 1,4–dioxano (4 mL) se selló herméticamente y la mezcla se agitó a 120 °C durante 3 h usando un reactor de microondas. La mezcla de reacción se filtró a través de gel de sílice y el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: acetato de etilo/hexano = 30→70%, gel de sílice básica eluyente:acetato de etilo/hexano = 30→80%) y el sólido obtenido se recristalizó en acetato de etilo/hexano para dar el compuesto del título en forma de cristales incoloros (rendimiento: 603 mg, 56%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,05 (3H, d, J = 6,6 Hz), 1,52 (3H, s), 1,68 (1H, brs), 2,33 (3H, s), 2,67 (2H, s), 3,98 (1H, brs), 7,00–7,18 (1H, m), 7,57 (1H, d, J = 8,3 Hz).

Punto de fusión: 164–171 °C.

Ejemplo 63

4–[(2S,3S)–3–hidroxi–2,3–dimetil–5–oxopirrolidin–1–il]–2–(trifluorometil)benzonitrilo



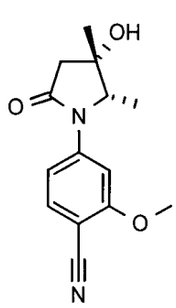
Usando 4–yodo–2–(trifluorometil)benzonitrilo (958 mg), (4S,5S)–4–hidroxi–4,5–dimetilpirrolidin–2–ona (500 mg), 4,5–bis(difenilfosfino)–9,9–dimetilxanteno (286 mg), tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0) (148 mg) y carbonato de cesio (1,55 g) y de la misma manera que en el Ejemplo 62, se obtuvo el compuesto del título en forma de cristales incoloros (rendimiento: 508 mg, 52%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,30 (3H, d, J = 6,6 Hz), 1,54 (3H, s), 1,93 (1H, s), 2,65 (1H, d, J = 17,2 Hz), 2,82 (1H, d, J = 17,2 Hz), 4,14 (1H, q, J = 6,6 Hz), 7,78 (1H, dd, J = 8,7, 1,9 Hz), 7,85 (1H, d, J = 8,7 Hz), 7,92 (1H, d, J = 1,9 Hz).

Punto de fusión: 134–137 °C (acetato de etilo/hexano).

Ejemplo 64

4–[(2S,3S)–3–hidroxi–2,3–dimetil–5–oxopirrolidin–1–il]–2–metoxibenzonitrilo



Usando 4–bromo–2–metoxibenzonitrilo (684 mg), (4S,5S)–4–hidroxi–4,5–dimetilpirrolidin–2–ona (500 mg), 4,5–bis(difenilfosfino)–9,9–dimetilxanteno (286 mg), tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0)

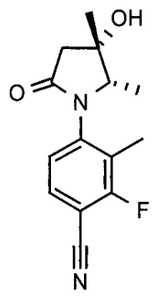
(148 mg) y carbonato de cesio (1,55 g) y de la misma manera que en el Ejemplo 62, se obtuvo el compuesto del título en forma de un sólido amorfo incoloro (rendimiento: 410 mg, 48%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,27 (3H, d, J = 6,4 Hz), 1,52 (3H, s), 1,97 (1H, s), 2,63 (1H, d, J = 17,0 Hz), 2,79 (1H, d, J = 17,0 Hz), 3,93 (3H, s), 4,08 (1H, q, J = 6,4 Hz), 6,82 (1H, dd, J = 8,5, 1,9 Hz), 7,42 (1H, d, J = 1,9 Hz), 7,54 (1H, d, J = 8,5 Hz).

LCMS (m/z): 261 $(M+H)^+$.

Ejemplo 65

2–fluoro–4–[(2S,3S)–3–hidroxi–2,3–dimetil–5–oxopirrolidin–1–il]–3–metilbenzonitrilo



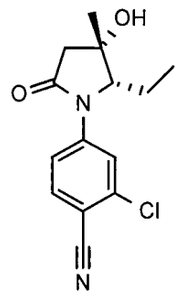
Usando 4–bromo–2–fluoro–3–metilbenzonitrilo (484 mg), (4S,5S)–4–hidroxi–4,5–dimetilpirrolidin–2–ona (350 mg), 4,5–bis(difenilfosfino)–9,9–dimetilxanteno (200 mg), tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0) (103 mg) y carbonato de cesio (1,08 g) y de la misma manera que en el Ejemplo 62, se obtuvo el compuesto del título en forma de cristales incoloros (rendimiento: 376 mg, 63%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,05 (3H, d, J = 6,6 Hz), 1,51 (3H, s), 1,81 (1H, s), 2,20 (3H, d, J = 2,5 Hz), 2,66–2,66 (2H, m), 3,99 (1H, q, J = 6,6 Hz), 6,98 (1H, d, J = 8,1 Hz), 7,48 (1H, dd, J = 8,1, 7,0 Hz).

Punto de fusión: 138–141 °C (acetato de etilo/hexano).

Ejemplo 66

2–cloro–4–[(2S,3S)–2–etil–3–hidroxi–3–metil–5–oxopirrolidin–1–il]benzonitrilo



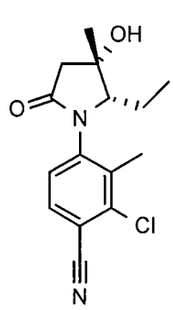
Usando 4–bromo–2–clorobenzonitrilo (459 mg), (4S,5S)–5–etil–4–hidroxi–4–metilpirrolidin–2–ona (350 mg), 4,5–bis(difenilfosfino)–9,9–dimetilxanteno (180 mg), tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0) (93 mg) y carbonato de cesio (929 mg) y de la misma manera que en el Ejemplo 62, se obtuvo el compuesto del título en forma de cristales incoloros (rendimiento: 318 mg, 56%).

^{1}H–RMN (CD_3SOCD_3) δ: 0,86 (3H, dd, J = 7,6, 7,4 Hz), 1,38 (3H, s), 1,44–1,64 (1H, m), 1,66–1,84 (1H, m), 2,49 (1H, d, J = 17,0 Hz), 2,69 (1H, d, J = 17,0 Hz), 4,11 (1H, dd, J = 7,7,3,4 Hz), 5,30 (1H, s), 7,65 (1H, dd, J = 8,7, 1,9 Hz), 7,97 (1H, d, J = 8,7 Hz), 8,00 (1H, d, J = 1,9 Hz).

Punto de fusión: 144–146 °C (acetato de etilo/hexano).

Ejemplo 67

2–cloro–4–[(2S,3S)–2–etil–3–hidroxi–3–metil–5–oxopirrolidin–1–il]–3–metilbenzonitrilo



Usando 2–cloro–4–yodo–3–metilbenzonitrilo (565 mg),

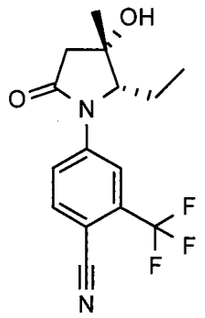
(4S,5S)–5–etil–4–hidroxi–4–metilpirrolidin–2–ona (350 mg), 4,5–bis(difenilfosfino)–9,9–dimetilxanteno (180 mg), tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0) (93 mg) y carbonato de cesio (929 mg) y de la misma manera que en el Ejemplo 62, se obtuvo el compuesto del título en forma de cristales incoloros (rendimiento: 132 mg, 22%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,87 (3H, dd, J = 7,6 Hz), 1,31–1,51 (1H, m), 1,59 (3H, s), 1,63–1,84 (1H, m), 1,68 (1H, s), 2,32 (3H, s), 2,67 (2H, s), 3,77 (1H, s), 7,12 (1H, d, J = 8,3 Hz), 7,57 (1H, d, J = 8,3 Hz).

Punto de fusión: 156–158 °C (acetato de etilo/hexano).

Ejemplo 68

4–[(2S,3S)–2–etil–3–hidroxi–3–metil–5–oxopirrolidin–1–il]–2–(trifluorometil)benzonitrilo



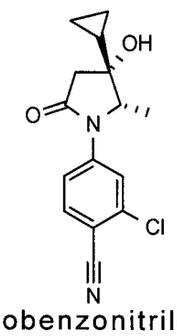
Usando 4–yodo–2–(trifluorometil)benzonitrilo (605 mg), (4S,5S)–5–etil–4–hidroxi–4–metilpirrolidin–2–ona (350 mg), 4,5–bis(difenilfosfino)–9,9–dimetilxanteno (180 mg), tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0) (93 mg) y carbonato de cesio (929 mg) y de la misma manera que en el Ejemplo 62, se obtuvo el compuesto del título en forma de un polvo blanco (rendimiento: 422 mg, 66%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,00 (3H, dd, J = 7,6, 7,4 Hz), 1,59 (3H, s), 1,71 (1H, dddd, J = 14,7, 7,6, 7,4, 3,2 Hz), 1,78 (1H, s), 1,91 (1H, dddd, J = 15,0, 14,7, 7,6, 7,4 Hz), 2,63 (1H, d, J = 17,2 Hz), 2,89 (1H, d, J = 17,2 Hz), 3,96 (1H, dd, J = 7,7,3,4 Hz), 7,75–7,91 (2H, m), 7,99 (1H, s).

Punto de fusión: 137–139 °C (acetato de etilo/hexano).

Ejemplo 69

2–cloro–4–[(2S,3R)–3–ciclopropil–3–hidroxi–2–metil–5–oxopirrolidin–1–il]benzonitrilo



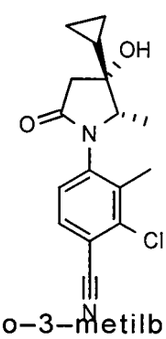
Usando 4–bromo–2–clorobenzonitrilo (424 mg), (4R,5S)–4–ciclopropil–4–hidroxi–5–metilpirrolidin–2–ona (350 mg), 4,5–bis(difenilfosfino)–9,9–dimetilxanteno (166 mg), tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0) (86 mg) y carbonato de cesio (902 mg) y de la misma manera que en el Ejemplo 62, se obtuvo el compuesto del título en forma de un polvo blanco (rendimiento: 58 mg, 11%).

^{1}H–RMN (DMSO–d_6) δ: 0,29–0,53 (4H, m), 0,97–1,20 (1H, m), 1,12 (3H, d, J = 6,2 Hz), 2,37–2,65 (2H, m), 4,33 (1H, q, J = 6,2 Hz), 4,97 (1H, s), 7,61 (1H, dd, J = 8,7, 1,7 Hz), 7,90 (1H, d, J = 1,7 Hz), 7,97 (1H, d, J = 8,7 Hz).

Punto de fusión: 93–100 °C (acetato de etilo/hexano).

Ejemplo 70

2–cloro–4–[(2S,3R)–3–ciclopropil–3–hidroxi–2–metil–5–oxopirrolidin–1–il]–3–metilbenzonitrilo



Usando 2–cloro–4–yodo–3–metilbenzonitrilo (522 mg), (4R,5S)–4–ciclopropil–4–hidroxi–5–metilpirrolidin–2–ona (350 mg),

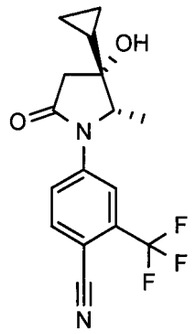
4,5–bis(difenilfosfino)–9,9–dimetilxanteno (166 mg), tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0) (86 mg) y carbonato de cesio (902 mg) y de la misma manera que en el Ejemplo 62, se obtuvo el compuesto del título en forma de un polvo blanco (rendimiento: 308 mg, 54%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,36–0,53 (2H, m), 0,53–0,66 (2H, m), 0,97–1,21 (1H, m), 1,08 (3H, d, J = 6,4 Hz), 1,69 (1H, brs), 2,33 (3H, s), 2,38 (1H, d, J = 17,0 Hz), 2,53 (1H, d, J = 17,0 Hz), 4,13 (1H, brs), 7,06–7,19 (1H, m), 7,57 (1H, d, J = 8,3 Hz).

Punto de fusión: 231–236 °C (acetato de etilo/hexano).

Ejemplo 71

4–[(2S,3R)–3–ciclopropil–3–hidroxi–2–metil–5–oxopirrolidin–1–il]–2–(trifluorometil)benzonitrilo



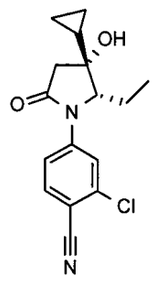
Usando 4–yodo–2–(trifluorometil)benzonitrilo (558 mg), (4R,5S)–4–ciclopropil–4–hidroxi–5–metilpirrolidin–2–ona (350 mg), 4,5–bis(difenilfosfino)–9,9–dimetilxanteno (166 mg), tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0) (86 mg) y carbonato de cesio (902 mg) y de la misma manera que en el Ejemplo 62, se obtuvo el compuesto del título en forma de un polvo amarillo (rendimiento: 123 mg, 20%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,38–0,69 (4H, m), 1,09–1,25 (1H, m), 1,32 (3H, d, J = 6,4 Hz), 1,70 (1H, s), 2,53 (1H, d, J = 17,2 Hz), 2,62 (1H, d, J = 17,2 Hz), 4,26 (1H, q, J = 6,4 Hz), 7,78 (1H, d, J = 8,5 Hz), 7,85 (1H, d, J = 8,5 Hz), 7,92 (1H, s).

Punto de fusión: 84–90 °C.

Ejemplo 72

2–cloro–4–[(2S,3R)–3–ciclopropil–2–etil–3–hidroxi–5–oxopirrolidin–1–il]benzonitrilo



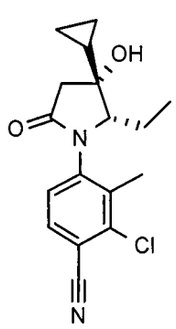
Usando 4–bromo–2–clorobenzonitrilo (389 mg), (4R,5S)–4–ciclopropil–5–etil–4–hidroxipirrolidin–2–ona (350 mg), 4,5–bis(difenilfosfino)–9,9–dimetilxanteno (153 mg), tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0) (79 mg) y carbonato de cesio (786 mg) y de la misma manera que en el Ejemplo 62, se obtuvo el compuesto del título en forma de cristales de color amarillo claro (rendimiento: 104 mg, 20%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,38–0,53 (2H, m), 0,53–0,69 (2H, m), 0,99 (3H, dd, J = 7,5, 7,4 Hz), 1,12–1,33 (1H, m), 1,62–1,78 (1H, m), 1,65 (1H, s), 1,80–2,01 (1H, m), 2,50 (1H, d, J = 17,2 Hz), 2,74 (1H, d, J = 17,2 Hz), 4,00 (1H, dd, J = 7,6,3,1 Hz), 7,54 (1H, dd, J = 8,7, 2,1 Hz), 7,66 (1H, d, J = 8,7 Hz), 7,81 (1H, d, J = 2,1 Hz).

Punto de fusión: 128–132 °C (acetato de etilo/n–heptano).

Ejemplo 73

2–cloro–4–[(2S,3R)–3–ciclopropil–2–etil–3–hidroxi–5–oxopirrolidin–1–il]–3–metilbenzonitrilo



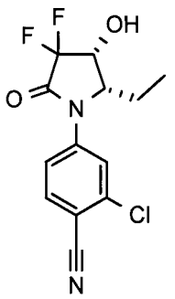
Usando 2–cloro–4–yodo–3–metilbenzonitrilo (478 mg), (4R,5S)–4–ciclopropil–5–etil–4–hidroxipirrolidin–2–ona (350 mg), 4,5–bis(difenilfosfino)–9,9–dimetilxanteno (153 mg), tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0) (79 mg) y carbonato de cesio (786 mg) y de la misma manera que en el Ejemplo 62, se obtuvo el compuesto del título en forma de cristales incoloros (rendimiento: 78 mg, 14%).

^{1}H–RMN (DMSO–d_6) δ: 0,39–0,53 (4H, m), 0,76 (3H, dd, J = 6,8,6,6 Hz), 1,08–1,27 (2H, m), 1,60–1,75 (1H, m), 2,24 (3H, s), 2,29 (1H, d, J = 6,2 Hz), 2,49–2,62 (1H, m), 4,05 (1H, brs), 4,95 (1H, brs), 7,45–7,49 (1H, m), 7,90 (1H, d, J = 8,3 Hz).

Punto de fusión: 177–179 °C (acetato de etilo/n–heptano).

Ejemplo 74

2–cloro–4–[(4R,5S)–5–etil–3,3–difluoro–4–hidroxi–2–oxopirrolidin–1–il]benzonitrilo



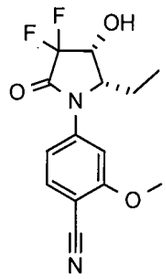
Usando 4–bromo–2–clorobenzonitrilo (2,28 g), (4R,5S)–5–etil–3,3–difluoro–4–hidroxipirrolidin–2–ona (2,00 g), 4,5–bis(difenilfosfino)–9,9–dimetilxanteno (954 mg), tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0) (554 mg) y carbonato de cesio (4,84 g) y de la misma manera que en el Ejemplo 62, se obtuvo el compuesto del título en forma de cristales de color amarillo claro (rendimiento: 153 mg, 10%).

^{1}H–RMN (CD_3SOCD_3) δ: 0,83 (3H, dd, J = 7,4, 7,4 Hz), 1,30–1,79 (2H, m), 4,45–4,78 (2H, m), 6,54 (1H, d, J = 4,2 Hz), 7,76 (1H, d, J = 8,7 Hz), 8,06 (1H, s), 8,08 (1H, d, J = 8,7 Hz).

Punto de fusión: 137–140 °C (acetato de etilo/hexano).

Ejemplo 75

4–[(4R,5S)–5–etil–3,3–difluoro–4–hidroxi–2–oxopirrolidin–1–il]–2–metoxibenzonitrilo



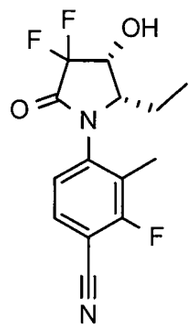
Usando 4–bromo–2–metoxibenzonitrilo (2,14 g), (4R,5S)–5–etil–3,3–difluoro–4–hidroxipirrolidin–2–ona (2,00 g), 4,5–bis(difenilfosfino)–9,9–dimetilxanteno (954 mg), tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0) (554 mg) y carbonato de cesio (4,84 g) y de la misma manera que en el Ejemplo 62, se obtuvo el compuesto del título en forma de un polvo blanco (rendimiento: 895 mg, 30%).

^{1}H–RMN (CD_3SOCD_3) δ: 0,83 (3H, dd, J = 7,3 Hz), 1,35–1,79 (2H, m), 3,93 (3H, s), 4,45–4,74 (2H, m), 6,53 (1H, s), 7,26 (1H, d, J = 8,5 Hz), 7,47 (1H, s), 7,82 (1H, d, J = 8,5 Hz).

Punto de fusión: 161–164 °C (acetato de etilo/hexano).

Ejemplo 76

4–[(4R,5S)–5–etil–3,3–difluoro–4–hidroxi–2–oxopirrolidin–1–il]–2–fluoro–3–metilbenzonitrilo



Una solución de [(1S)–1–formilpropil]carbamato de bencilo (3,00 g) y bromodifluoroacetato de etilo (4,21 g) en acetonitrilo (110 mL) se enfrió en hielo bajo una atmósfera de nitrógeno y se añadió cloruro de tris(trifenilfosfonio)rodio (I) (126 mg). La mezcla se agitó a

la misma temperatura durante 30 min, se añadió solución de 1,0 mol/L–dietilcinc/hexano (20,3 mL) y la mezcla se agitó a la misma temperatura durante 4 h y a temperatura ambiente durante 14 h. Se agregó agua (100 mL) a la mezcla de reacción y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica obtenida se lavó con salmuera saturada, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: acetato de etilo/hexano = 0→30%). El aceite obtenido se disolvió en metanol (10 mL) y la solución se enfrió en hielo. Se agregó 1 mol/L de solución acuosa de hidróxido de sodio (7,2 mL) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La solución de reacción se concentró a presión reducida y acetato de etilo y agua se añadieron al residuo obtenido. La capa acuosa se separó, se añadieron 6 mol/L de ácido clorhídrico y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica obtenida se concentró a presión reducida, el residuo obtenido se disolvió en metanol (10 mL) y se añadieron 1 mol/L de solución acuosa de hidróxido de sodio (4,37 mL) y paladio sobre carbón al 10% (que contiene 50% de agua, 146 mg). La solución de reacción se agitó durante 20 h bajo una atmósfera de hidrógeno y se filtró a través de celite. El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo obtenido se disolvió en dimetilsulfóxido (10 mL). Se agregaron 2,4–difluoro–3–metilbenzonitrilo (982 mg) y diisopropiletilamina (2,47 mL) y la mezcla se agitó a 100 °C durante 12 h. La solución de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente, se agregó 1 mol/L de solución de ácido clorhídrico (30 mL) y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica obtenida se concentró a presión reducida, se agregó ácido acético (5 mL) al residuo y la mezcla se agitó a 100 °C durante 18 h. La solución de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente, se añadió solución acuosa saturada de carbonato hidrogenado de sodio (50 mL) y la

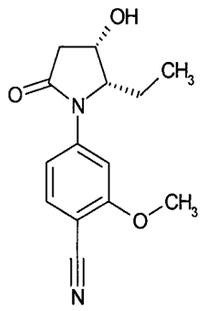
mezcla se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica obtenida se lavó con salmuera saturada, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: acetato de etilo/hexano = 20→50%, gel de sílice básica eluyente:acetato de etilo/hexano = 60→100%) y el sólido obtenido se recristalizó en acetato de etilo/éter dietílico/hexano para dar el compuesto del título en forma de cristales incoloros (rendimiento: 91 mg, 2%).

^{1}H–RMN (DMSO–d_6) δ: 0,79 (3H, dd, J = 7,2,7,0 Hz), 1,17–1,39 (1H, m), 1,46–1,69 (1H, m), 2,08 (3H, s), 4,26 (1H, brs), 4,57–4,70 (1H, m), 6,57 (1H, brs), 7,47 (1H, brd, J = 7,6 Hz), 7,91 (1H, dd, J = 7,6 Hz).

Punto de fusión: 176–180 °C (acetato de etilo/éter dietílico/hexano).

Ejemplo 77

4–[(2S,3S)–2–etil–3–hidroxi–5–oxopirrolidin–1–il]–2–metoxibenzonitrilo



Una solución de (4S,5S)–4–(ter–butildimetilsililoxi)–5–etilpirrolidin–2–ona (340 m), 4–yodo–2–metoxibenzonitrilo (434 mg), carbonato de cesio (683 mg), tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0) (64,0 mg) y 4,5–bis(difenilfosfino)–9,9–dimetilxanteno (121 mg) en dioxano (10 mL) se agitó a 80 °C durante 6,5 h bajo una atmósfera de argón. Después de llegar a temperatura ambiente, se añadió agua a la mezcla de reacción y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se lavó con salmuera saturada, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se

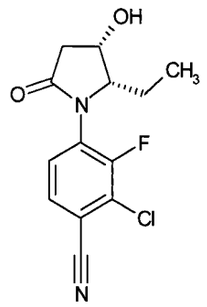
purificó por cromatografía en columna de gel de sílice básica (eluyente: hexano–acetato de etilo = 99:1→1:1). El residuo obtenido se disolvió en etanol (10 mL)–tetrahidrofurano (10 mL), se añadieron 6 mol/L de ácido clorhídrico (4,66 mL) y la mezcla se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla se neutralizó con solución acuosa saturada de carbonato hidrogenado de sodio bajo enfriamiento con hielo y se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con salmuera saturada y se secó sobre sulfato de magnesio y el solvente se evaporó a presión reducida. El residuo obtenido se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano:acetato de etilo = 9:1→1:9) y se recristalizó en tetrahidrofurano–hexano para dar el compuesto del título en forma de cristales incoloros (rendimiento: 115 mg, 32%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,01 (3H, t, J = 7,5 Hz), 1,68–1,82 (3H, m), 2,62–2,70 (1H, m), 2,81–2,90 (1H, m), 3,94 (3H, s), 4,08–4,17 (1H, m), 4,62–4,72 (1H, m), 6,80 (1H, dd, J = 8,3, 1,9 Hz), 7,31 (1H, d, J = 1,7 Hz), 7,55 (1H, d, J = 8,3 Hz).

Punto de fusión: 158–160 °C.

Ejemplo 78

2–cloro–4–[(2S,3S)–2–etil–3–hidroxi–5–oxopirrolidin–1–il]–3–fluorobenzonitrilo



Una solución de (4S,5S)–4–(ter–butildimetilsililoxi)–5–etilpirrolidin–2–ona (300 mg), 2–cloro–3–fluoro–4–yodobenzonitrilo (416 mg), carbonato de cesio (602 mg), tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0) (56,4 mg) y 4,5–bis(difenilfosfino)–9,9–dimetilxanteno (107 mg) en dioxano (10 mL)

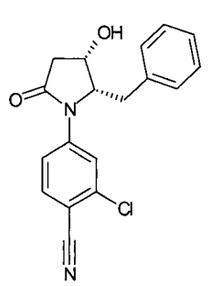
se agitó a 80 °C durante la noche bajo una atmósfera de argón. Después de llegar a temperatura ambiente, se añadió agua a la mezcla de reacción y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se lavó con salmuera saturada, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice básica (eluyente: hexano → hexano–acetato de etilo = 2:1). El residuo obtenido se disolvió en etanol (10 mL)–tetrahidrofurano (10 mL), se añadió ácido clorhídrico concentrado (2,06 mL) y la mezcla se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla se neutralizó con solución acuosa saturada de carbonato hidrogenado de sodio bajo enfriamiento con hielo y se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con salmuera saturada y se secó sobre sulfato de magnesio y el solvente se evaporó a presión reducida. El residuo obtenido se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano → acetato de etilo) y se recristalizó en hexano–acetato de etilo para dar el compuesto del título en forma de cristales incoloros (rendimiento: 86 mg, 25%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,99 (3H, t, J = 7,4 Hz), 1,40–1,74 (3H, m), 2,61 (1H, dd, J = 17,6,1,5 Hz), 2,86 (1H, dd, J = 17,4,5,7 Hz), 4,06–4,16 (1H, m), 4,59–4,68 (1H, m), 7,38–7,45 (1H, m), 7,50–7,55 (1H, m).

Punto de fusión: 142–144 °C.

Ejemplo 79

rac–4–[(2S,3S)–2–bencil–3–hidroxi–5–oxopirrolidin–1–il]–2–clorobenzonitrilo



A una mezcla de 4–(2–bencil–3–hidroxi–5–oxo–2,5–dihidro–

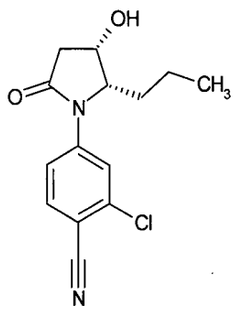
1H–pirrol–1–il)–2–clorobenzonitrilo (400 mg) y ácido acético (0,60 mL) en acetonitrilo (20 mL) se añadió borhidruro de sodio (86 mg) a 0 °C en pequeñas porciones. La mezcla se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante 3 h. Se agregó agua y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con salmuera saturada y se secó sobre sulfato de magnesio y el solvente se evaporó a presión reducida. El residuo obtenido se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice básica (eluyente: hexano:acetato de etilo = 4:1→acetato de etilo) y se recristalizó en tetrahidrofurano–hexano para dar el compuesto del título en forma de cristales incoloros (rendimiento: 310 mg, 77%).

^{1}H–RMN (DMSO–d_6) δ: 2,38 (1H, dd, J = 16,8, 5,7 Hz), 2,65 (1H, dd, J = 16,8, 6,8 Hz), 2,82 (1H, dd, J = 13,6, 5,3 Hz), 3,01 (1H, dd, J = 13,6, 7,7 Hz), 4,34 (1H, br.s.), 4,65–4,74 (1H, m), 5,61 (1H, d, J = 2,6 Hz), 7,09–7,24 (5H, m), 7,58 (1H, dd, J = 8,7, 2,1 Hz), 7,76 (1H, d, J = 2,1 Hz), 7,89 (1H, d, J = 8,7 Hz).

Punto de fusión: 168–169 °C.

Ejemplo 80

2–cloro–4–[(2S,3S)–3–hidroxi–5–oxo–2–propilpirrolidin–1–il]benzonitrilo



A una mezcla de 2–cloro–4–(3–hidroxi–5–oxo–2–propil–2,5–dihidro–1H–pirrol–1–il)benzonitrilo (800 mg) y ácido acético (1,82 mL) en acetonitrilo (25 mL) se añadió borhidruro de sodio (273 mg) a 0 °C en pequeñas porciones. La mezcla se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante 1 h. Se agregó agua y salmuera saturada se añadieron y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La

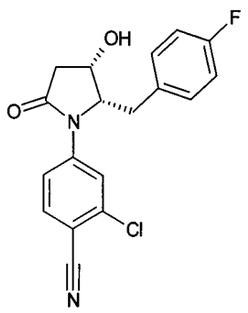
capa orgánica se lavó con salmuera saturada y se secó sobre sulfato de magnesio y el solvente se evaporó a presión reducida. El residuo obtenido se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice básica (eluyente: hexano:acetato de etilo = 4:1→acetato de etilo) y se recristalizó en tetrahidrofurano–hexano para dar el compuesto del título en forma de cristales incoloros (rendimiento: 578 mg, 72%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,96 (3H, t, J = 7,2 Hz), 1,28–1,81 (4H, m), 1,90 (1H, d, J = 4,9 Hz), 2,61–2,88 (2H, m), 4,14–4,24 (1H, m), 4,59–4,69 (1H, m), 7,38 (1H, dd, J = 8,5, 2,1 Hz), 7,64 (1H, d, J = 1,9 Hz), 7,68 (1H, d, J = 8,5 Hz).

Punto de fusión: 143–146 °C.

Ejemplo 81

rac–2–cloro–4–[(2S,3S)–2–(4–fluorobencil)–3–hidroxi–5–oxopirrolidin–1–il]benzonitrilo



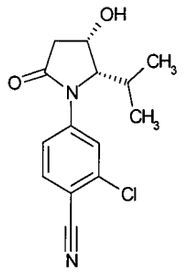
A una mezcla de 2–cloro–4–[2–(4–fluorobencil)–3–hidroxi–5–oxo–2,5–dihidro–1H–pirrol–1–il]benzonitrilo (1,00 g) y ácido acético (1,84 mL) en acetonitrilo (10 mL) se añadió borhidruro de sodio (276 mg) a 0 °C en pequeñas porciones. La mezcla se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante 1 h. Se agregaron agua y salmuera saturada y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con salmuera saturada y se secó sobre sulfato de magnesio y el solvente se evaporó a presión reducida. El residuo obtenido se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice básica (eluyente: hexano:acetato de etilo = 4:1→acetato de etilo) y se recristalizó en tetrahidrofurano–hexano para dar el compuesto del título en forma de cristales incoloros (rendimiento: 717 mg, 71%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,89 (1H, d, J = 4,3 Hz), 2,47–2,58 (1H, m), 2,70–2,82 (1H, m), 2,93–3,12 (2H, m), 4,44–4,58 (2H, m), 6,94–7,04 (2H, m), 7,13–7,23 (2H, m), 7,47 (1H, dd, J = 8,7, 1,9 Hz), 7,65–7,71 (2H, m).

Punto de fusión: 154–156 °C.

Ejemplo 82

2–cloro–4–[(2S,3S)–3–hidroxi–2–(1–metiletil)–5–oxopirrolidin–1–il]benzonitrilo



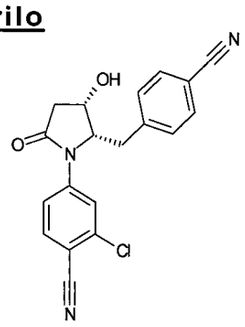
A una mezcla de 2–cloro–4–[3–hidroxi–2–(1–metiletil)–5–oxo–2,5–dihidro–1H–pirrol–1–il]benzonitrilo (300 mg) y ácido acético (0,68 mL) en acetonitrilo (10 mL) se añadió borhidruro de sodio (103 mg) a 0 °C en pequeñas porciones. La mezcla se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante 1 h. Se agregó agua y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con salmuera saturada y se secó sobre sulfato de magnesio y el solvente se evaporó a presión reducida. El residuo obtenido se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice básica (eluyente: hexano:acetato de etilo = 4:1→acetato de etilo) y se recristalizó en hexano–acetato de etilo para dar el compuesto del título en forma de cristales incoloros (rendimiento: 76 mg, 25%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,93 (3H, d, J = 7,2 Hz), 1,08 (3H, d, J = 7,2 Hz), 1,90 (1H, d, J = 4,9 Hz), 2,19–2,38 (1H, m), 2,65–2,89 (2H, m), 4,22–4,28 (1H, m), 4,79–4,90 (1H, m), 7,45 (1H, dd, J = 8,5, 2,1 Hz), 7,67 (1H, d, J = 8,5 Hz), 7,70 (1H, d, J = 1,9 Hz).

Punto de fusión: 100–102 °C.

Ejemplo 83

rac–2–cloro–4–[(2S,3S)–2–(4–cianobencil)–3–hidroxi–5–oxopirrolidin–1–il]benzonitrilo



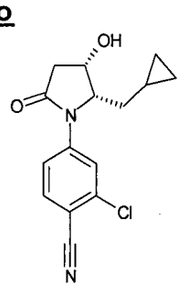
A una mezcla de 2–cloro–4–[2–(4–cianobencil)–3–hidroxi–5–oxo–2,5–dihidro–1H–pirrol–1–il]benzonitrilo (300 mg) y ácido acético (0,54 mL) en acetonitrilo (10 mL) se añadió borhidruro de sodio (81 mg) a 0 °C en pequeñas porciones. La mezcla se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante 1 h. Se agregó agua y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con salmuera saturada y se secó sobre sulfato de magnesio y el solvente se evaporó a presión reducida. El residuo obtenido se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice básica (eluyente: hexano:acetato de etilo = 4:1→acetato de etilo) y se recristalizó en tetrahidrofurano–hexano para dar el compuesto del título en forma de cristales incoloros (rendimiento: 162 mg, 54%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 1,97 (1H, d, J = 4,5 Hz), 2,52 (1H, dd, J = 17,3,4,2 Hz), 2,72–2,85 (1H, m), 3,01–3,24 (2H, m), 4,47–4,58 (2H, m), 7,37 (2H, d, J = 8,5 Hz), 7,48 (1H, dd, J = 8,6,2,2 Hz), 7,60 (2H, d, J = 8,5 Hz), 7,67 (1H, d, J = 1,9 Hz), 7,70 (1H, d, J = 8,5 Hz).

Punto de fusión: 176–178 °C.

Ejemplo 84

2–cloro–4–[(2S,3S)–2–(ciclopropilmetil)–3–hidroxi–5–oxopirrolidin–1–il]benzonitrilo



A una mezcla de 2–cloro–4–[2–(ciclopropilmetil)–3–hidroxi–5–oxo–2,5–dihidro–1H–pirrol–1–il]benzonitrilo (400 mg) y ácido acético (0,87 mL) en acetonitrilo (10 mL) se añadió borhidruro de sodio (131 mg) a 0 °C en pequeñas porciones. La mezcla se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante 1 h. Se agregó agua y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con salmuera saturada y se secó sobre sulfato de magnesio y el solvente se evaporó a presión reducida. El residuo obtenido se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice básica (eluyente: hexano:acetato de etilo = 4:1 → acetato de etilo) y se recristalizó en tetrahidrofurano–hexano para dar el compuesto del título en forma de cristales incoloros (rendimiento: 310 mg, 77%).

^{1}H–RMN ($CDCl_3$) δ: 0,06–0,16 (2H, m), 0,46–0,56 (2H, m), 0,66–0,79 (1H, m), 1,41–1,52 (1H, m), 1,74–1,87 (1H, m), 1,96 (1H, d, J = 4,7 Hz), 2,68–2,91 (2H, m), 4,31–4,39 (1H, m), 4,71–4,80 (1H, m), 7,45 (1H, dd, J = 8,7, 2,1 Hz), 7,63–7,69 (2H, m).

Punto de fusión: 137–139 °C.

Ejemplo experimental 1

Ensayo de inhibición de la unión de AR

A una solución que contenía un receptor de andrógeno de tipo natural (AR) se le añadió mibolerona radiomarcada (3 nM) y un compuesto (100 nM) y la mezcla se incubó a 4 °C durante 3 h. Se separaron B (unido)/F (libre) por medio del método de dextrano/carbón. Se midió el conteo de la etiqueta de B y se calculó la tasa de inhibición del compuesto. Los resultados se muestran en la tabla 1.

Tabla 1

Compuesto de ejemplo Nº	Tasa de inhibición (%) a 100 nM
8	90
17	90
40	90
41	96
55	99
59	94
74	97
75	95

Ejemplo experimental 2

Evaluación del compuesto en sistema de ensayo con informador usando células Cos–7

Se sembraron células Cos–7 (5.000.000 células) en un matraz de 150 cm^2 y se cultivaron en un medio de cultivo (medio DMEM con 10% de dextrano–carbón (DCC)–suero bovino fetal (FBS), 2 mM de glutamina) durante 24 h. El ADN vector que contenía gen de AR y el ADN vector que contenía gen de luciferasa unidos corriente abajo de un promotor que responde a andrógenos derivado de MMTV (*Mouse Mammary Tumor Virus*, virus de tumor de mama de ratón) se cotransfectaron por medio de un método liposómico. Después de cultivarlas durante 4 h, las células se recogieron y 10.000 células se colocaron en una placa de 96 pocillos y se cultivaron durante 2 h. Se les añadió 5α–dihidrotestosterona (1 μM) o un compuesto (100 nM) y luego las células se cultivaron durante 24 h, tras lo cual se midió la actividad de la luciferasa. La tasa de inducción por el compuesto se calculó con la actividad de la luciferasa inducida por la adición de 5α–dihidrotestosterona (1 μM) como 100. Los resultados se muestran en la tabla 2.

Tabla 2

Compuesto de ejemplo Nº	Tasa de inducción (%) a 100 nM
8	106
17	23
40	40
41	81
55	80
59	67
74	79
75	69

Ejemplo de formulación 1 - Inyección que contiene el compuesto del Ejemplo 1

(1) compuesto del Ejemplo 1 5,0 mg

(2) cloruro de sodio 20,0 mg

(3) cantidad de agua destilada para lograr un total de 2 ml

El compuesto (5,0 mg) del Ejemplo 1 y cloruro de sodio (20,0 mg) se disolvieron en agua destilada y se añadió agua a la cantidad total de 2,0 ml. La solución se filtró y se llevó asépticamente en una ampolla (2 ml). La ampolla se esteriliza y se sella herméticamente para dar una solución inyectable.

Aplicabilidad industrial

El compuesto de la presente invención tiene una acción superior como un modulador del receptor de andrógeno (en particular, agonista) y es de utilidad para la prevención o el tratamiento de hipogonadismo, trastorno climatérico masculino, debilidad, caquexia, osteoporosis, y similares, para los cuales es efectiva la administración del modulador del receptor de andrógeno (en particular, agonista).

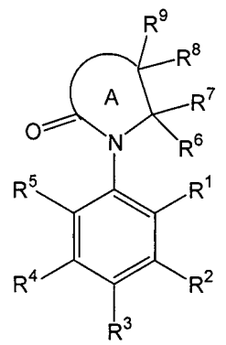
Esta solicitud se basa en las solicitudes de patente Nros.

2007–205966 y 2007–299658 presentadas en Japón, cuyos contenidos se incorporan en su totalidad en la presente por referencia.

A pesar de que la presente invención fue presentada o descrita haciendo referencia a las formas de realización preferidas de esta invención, los especialistas en el arte entenderán, sin embargo, que se pueden hacer diversas modificaciones a las formas y detalles sin apartarse del alcance de la invención tal como se establece en las reivindicaciones anexas. Todas las patentes, publicaciones de patente y otras publicaciones indicadas o citadas en la memoria descriptiva se han incorporado en la presente en su totalidad por referencia.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto caracterizado por la fórmula (I)



(I)

en donde

R^1 es un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno, un grupo a través de un átomo de carbono, un grupo a través de un átomo de nitrógeno, un grupo a través de un átomo de oxígeno o un grupo a través de un átomo de azufre;

R^2 es un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno, un grupo a través de un átomo de carbono, un grupo a través de un átomo de nitrógeno, un grupo a través de un átomo de oxígeno o un grupo a través de un átomo de azufre;

R^3 es un grupo extractor de electrones;

R^4 es un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno, un grupo a través de un átomo de carbono, un grupo a través de un átomo de nitrógeno, un grupo a través de un átomo de oxígeno o un grupo a través de un átomo de azufre;

R^5 es un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno, un grupo a través de un átomo de carbono, un grupo a través de un átomo de nitrógeno, un grupo a través de un átomo de oxígeno o un grupo a través de un átomo de azufre;

R^6 es un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno, un grupo a través de un átomo de carbono, un grupo a través de un átomo de nitrógeno, un grupo a través de un átomo de oxígeno o un grupo a través de un átomo de azufre;

R^7 es un grupo alquilo que opcionalmente tiene sustituyente(s) o un grupo aralquilo que opcionalmente tiene sustituyente(s);

R^8 es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo que opcionalmente tiene sustituyente(s), un grupo alquenilo que opcionalmente tiene sustituyente(s) o un grupo cicloalquilo que opcionalmente tiene sustituyente(s);

R^9 es un grupo a través de un átomo de oxígeno; y

el Anillo A es un anillo de 5 ó 6 miembros que también tiene opcionalmente sustituyentes (en este caso, el Anillo A puede ser un anillo de 5 ó 6 miembros que forma un enlace espiro con cicloalcano C_{3-6}) o una de sus sales.

2. El compuesto tal y como se describe en la reivindicación 1, caracterizado además porque el Anillo A es un anillo pirrolidina que también tiene opcionalmente sustituyentes o un anillo piperidina que también tiene opcionalmente sustituyentes (el anillo pirrolidina y el anillo piperidina forman opcionalmente un enlace espiro con cicloalcano C_{3-6}).

3. El compuesto tal y como se describe en la reivindicación 1, caracterizado además porque

R^1 es un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno o un grupo alquilo inferior que opcionalmente tiene sustituyente(s);

R^2 es un átomo de halógeno, un grupo alquilo inferior que opcionalmente tiene sustituyente(s) o un grupo alcoxi inferior que opcionalmente tiene sustituyente(s);

R^3 es un grupo ciano;

R^4 es un átomo de hidrógeno o un átomo de halógeno;

R^5 es un átomo de hidrógeno;

R^6 es un átomo de hidrógeno;

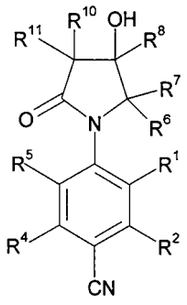
R^7 es un grupo alquilo inferior que opcionalmente tiene sustituyente(s) o un grupo aralquilo que opcionalmente tiene sustituyente(s);

R^8 es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo inferior que opcionalmente tiene sustituyente(s) o un grupo cicloalquilo C_{3-6} que opcionalmente tiene sustituyente(s);

R^9 es un grupo hidroxi; y

el Anillo A es un anillo pirrolidina que opcionalmente tiene 1 ó 2 sustituyentes seleccionados de un átomo de halógeno, un grupo alquilo inferior que opcionalmente tiene un grupo hidroxi, un grupo alquenilo inferior y un grupo aralquilo o un anillo pirrolidina que forma un enlace espiro con cicloalcano C_{3-6}.

4. El compuesto tal y como se describe en la reivindicación 1, caracterizado además porque la fórmula (I) es la fórmula (I')



(I')

en donde

R^1 es un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno o un grupo alquilo inferior que opcionalmente tiene sustituyente(s);

R^2 es un átomo de halógeno, un grupo alquilo inferior que opcionalmente tiene átomo(s) de halógeno o un grupo alcoxi inferior que opcionalmente tiene átomo(s) de halógeno;

R^4 es un átomo de hidrógeno o un átomo de halógeno;

R^5 y R^6 son cada uno un átomo de hidrógeno;

R^7 es un grupo alquilo inferior que opcionalmente tiene sustituyente(s) o un grupo aralquilo que opcionalmente tiene sustituyente(s);

R^8 es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo inferior que opcionalmente tiene sustituyente(s) o un grupo cicloalquilo C_{3-6} que

opcionalmente tiene sustituyente(s); y

R^{10} y R^{11} son iguales o diferentes y cada uno es un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno, un grupo alquilo inferior que opcionalmente tiene un grupo hidroxi, un grupo alquenilo inferior o un grupo aralquilo;

en este caso, R^{10} y R^{11} pueden formar cicloalcano C_{3-6} junto con el átomo de carbono adyacente.

5. El compuesto tal y como se describe en la reivindicación 4, caracterizado además porque R^1 es un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno o un grupo alquilo inferior;

R^2 es un átomo de halógeno, un grupo alquilo inferior que opcionalmente tiene átomo(s) de halógeno o un grupo alcoxi inferior que opcionalmente tiene átomo(s) de halógeno;

R^7 es un grupo alquilo inferior que opcionalmente tiene sustituyente(s) seleccionados de un grupo hidroxi, un grupo alcoxi inferior y un grupo cicloalquilo C_{3-6} o un grupo aralquilo que opcionalmente tiene sustituyente(s) seleccionados de un átomo de halógeno y un grupo ciano;

R^8 es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo inferior o un grupo cicloalquilo C_{3-6}; y

R^{10} y R^{11} son iguales o diferentes y cada uno es un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno, un grupo alquilo inferior, un grupo alquenilo inferior, un grupo aralquilo o un grupo alquilo inferior sustituido con un grupo hidroxilo (en este caso, R^{10} y R^{11} forman opcionalmente ciclopropano junto con el átomo de carbono adyacente).

6. 4–[(2S,3S)–2–etil–3–hidroxi–5–oxopirrolidin–1–il]–2–(trifluorometil)benzonitrilo o una sal de él.

7. 2–Cloro–4–[(4S,5S)–4–hidroxi–5–metil–2–oxopirrolidin–1–il]benzonitrilo o una sal de él.

8. 4–[(4R,5S)–5–etil–3,3–difluoro–4–hidroxi–2–oxopirrolidin–1–il]–2–metoxibenzonitrilo o una sal de él.

9. 2–Cloro–4–[(2S,3S,4S)–2–etil–3–hidroxi–4–metil–5–oxopirrolidin–1–il]benzonitrilo o una sal de él.

10. 2–Cloro–4–[(4R,5S)–5–etil–3,3–difluoro–4–hidroxi–2–oxopirrolidin–1–il]benzonitrilo o una sal de él.

11. 4–[(2S,3S)–2–etil–3–hidroxi–5–oxopirrolidin–1–il]–2–(trifluorometil)benzonitrilo.

12. 2–Cloro–4–[(4S,5S)–4–hidroxi–5–metil–2–oxopirrolidin–1–il]benzonitrilo.

13. 4–[(4R,5S)–5–etil–3,3–difluoro–4–hidroxi–2–oxopirrolidin–1–il]–2–metoxibenzonitrilo.

14. 2–Cloro–4–[(2S,3S,4S)–2–etil–3–hidroxi–4–metil–5–oxopirrolidin–1–il]benzonitrilo.

15. 2–Cloro–4–[(4R,5S)–5–etil–3,3–difluoro–4–hidroxi–2–oxopirrolidin–1–il]benzonitrilo.

16. Un profármaco del compuesto tal y como se describe en la reivindicación 1.

17. Un agente farmacéutico caracterizado además porque comprende el compuesto tal y como se describe en la reivindicación 1 o un profármaco de él.

18. El agente farmacéutico tal y como se describe en la reivindicación 17, caracterizado además porque es un modulador del receptor de andrógeno.

19. El agente farmacéutico tal y como se describe en la reivindicación 17, caracterizado además porque es un agonista del receptor de andrógeno.

20. El agente farmacéutico tal y como se describe en la reivindicación 17, caracterizado además porque es un modulador del receptor de andrógeno selectivo de tejidos.

21. El agente farmacéutico tal y como se describe en la

reivindicación 17, caracterizado además porque es un agente para la prevención o el tratamiento de hipogonadismo, trastorno climatérico masculino, debilidad, caquexia u osteoporosis.

22. El agente farmacéutico tal y como se describe en la reivindicación 17, caracterizado además porque es un supresor de la debilidad, un mejorador de la fuerza muscular, un agente aumentador de músculos, un supresor de caquexia, un supresor de la reducción del peso corporal, un agente para la prevención o el tratamiento de hipertrofia de próstata, amiotrofia o pérdida muscular causada por una enfermedad o un agente para reducir el peso de la próstata.

RESUMEN

Un compuesto representado por la fórmula (I) de acuerdo con la reivindicación I o una sal de él, que tiene una acción moduladora superior del receptor de andrógeno.

DGA\DGA\ID-237242\WPC14656

CAVELIER
ABOGADOS
EDIFICIO SISKI
CARRERA 4a N° 72-35
BOGOTA, D - COLOMBIA

179

Representación y Poder con autenticación notarial y Apostille para patentes, modelos de utilidad, diseños industriales, marcas de fábrica, nombres comerciales, enseñas, nombres de dominio, lemas comerciales, licencias.

Representation and Power-of- Attorney with notarial authentication and Apostille for patents, utility models, industrial designs, trademarks, commercial names, trade emblems, domain names, slogans, licenses.

REPRESENTACION Y PODER

REPRESENTATION AND POWER- OF- ATTORNEY

14656
08085

Yo (nosotros), abajo firmado (s)/I (we), the undersigned
TAKEDA PHARMACEUTICAL COMPANY LIMITED
domiciliado (s) en/of 1-1, Doshomachi 4-chome,
Chuo-ku, Osaka-shi, Osaka Japan

por el presente nombramos a EMILIO FERRERO, tpa. 31929; GONZALO PERDOMO, tpa. 831; LUZ CLEMENCIA DE PAEZ, tpa. 23555 y GERMAN CAVELIER, tpa. 832, domiciliados en la Carrera 4ª N° 72-35, Bogotá, Colombia, en obedecimiento a lo dispuesto en el parágrafo 1o del Artículo 543 del Código de Comercio, el primero como principal y los demás como suplentes, en su orden, como mis (nuestros) representantes en todos los asuntos de propiedad industrial con facultad para recibir notificaciones y nombrar apoderados judiciales o extrajudiciales. El primer representante suplente reemplazará al principal en caso de ausencia o impedimento temporal o definitivo de aquél. La misma regla se aplicará cuando el segundo representante suplente haya de reemplazar al primero, o el tercero al segundo. En tales casos, el representante principal, o el primero, o segundo suplente, en su caso, o ambos, declararán su intención de no ejercer la representación mediante declaración autenticada por Notario Público en Colombia, o por Notario u otro Funcionario Público, o Cónsul de Colombia, en el extranjero; y si se tratare de impedimento, con el certificado respectivo. Si alguno de los nombrados faltare definitivamente, el siguiente tomará su lugar. Cuando cesare la ausencia o impedimento del representante principal, o de su primero o segundo suplentes, en su caso, podrán ejercer la representación, en su orden, uno u otros según el caso, asumiéndola por el solo hecho de ejercerla, cesando en ese momento el ejercicio de la representación por el primero, segundo o tercer suplente en su caso.

Además, confiero (conferimos) poder a los abogados arriba nombrados, para obtener la protección de mi (nuestra) propiedad industrial y contra la competencia desleal, a cuyo efecto autorizo (amos) a los dichos apoderados para que me (nos) representen ante cualesquiera entidades o personas, ejerzan o no jurisdicción, especialmente ante las del orden administrativo, contencioso-administrativo y judicial, así como los tribunales de arbitramento, en todo lo concerniente a los siguientes asuntos: a) Obtención de patentes de invención, modelos de utilidad, y diseños industriales; el registro de marcas de fábrica, colectivas, defensivas, de servicio, lemas comerciales, nombres comerciales, enseñas, nombres de dominio, variedades vegetales y denominaciones de origen; su renovación, traspaso, cambio de nombre o domicilio, cancelación voluntaria; y el registro de licencias de uso de esos derechos; b) Las acciones de competencia desleal, protección del consumidor, oposiciones u observaciones, cancelación administrativa y judicial, nulidad, medidas cautelares, concesión de licencias, la tutela, la protección de secretos industriales, y en general los juicios civiles, penales, administrativos o contencioso-administrativos relacionados con estos derechos; acciones y procesos que promovamos o se nos

in due compliance with the terms of paragraph 1st. of article 543 of the Commercial Code, do hereby appoint EMILIO FERRERO, tpa. 31929; GONZALO PERDOMO, tpa. 831; LUZ CLEMENCIA DE PAEZ, tpa. 23555 and GERMAN CAVELIER, tpa. 832, domiciled at Carrera 4ª N° 72-35, Bogotá, Colombia, the first as principal and the others as alternates, in the order of their appointment, as our representatives for all industrial property matters with faculty to receive notifications and to appoint attorneys in and out of Court. The first alternate shall replace the principal in case of his absence or of temporal or definitive impediment. The same rule will apply when the second alternate representative is to replace the first one, or when the third is to replace the first or second alternates in their turn, or both of them, second. In such cases, the principal representative, or the first or second alternates in their turn, or both of them, shall state their intention not to act as representatives through a declaration given before a Notary Public in Colombia, or before a Notary or another Public Official or a Colombian Consul abroad; and in case of impediment, the appropriate certificate shall suffice. If any of the appointees were to be definitely absent, the following alternate shall take his place. When the absence or impediment of the principal representative, or of the first or second alternate in their turn ceases, the representation can be taken again in their sequence, by the principal, the first or second alternate depending on case, and the mere fact or its exercise will suffice. The exercise of the representation by the first, second or third alternates in their turn shall end at such time.

In addition, we grant a Power of Attorney in favor of the above-named attorneys-at-law so that they may obtain the protection of my (our) industrial property and against the unfair competition, for which purpose I (we) authorize the said attorneys to represent me (us) before any authorities or persons, with or without jurisdiction, specially those administrative, administrative contentious and judicial, as well as before Arbitration Court, in all matters concerning the following: a) Obtainment of patents, utility models and industrial designs; the registration of trademarks, collective, defensive and service marks, slogans, commercial names, trade emblems, domain names, vegetal varieties and denominations of origin; its renewal, assignment, change of name or domicile, voluntary cancellation; and the registration of licenses of use of the above rights; b) Actions of unfair competition, protection to the consumer, oppositions or observations, administrative or Court cancellation, nullity, infringement, granting of licenses, the action for writ mandamus, the protection of trade secrets, and in general the civil, penal, and administrative suits relating to those rights; actions and suits instituted by me (us) or against me (us). And that in all the above matters they may substitute this Power of Attorney, compromise, conciliate, admit

© CAVELIER ABOGADOS

promuevan. Y para que en todos los asuntos arriba determinados, puedan sustituir, este mandato, transigir, conciliar, admitir los hechos del proceso, desistir, cancelar, recibir, renunciar, y ratificar los actos de agentes oficiosos.

the facts of the case, desist, cancel, receive, resign, and ratify acts done by representatives without a power of attorney.

Dado y firmado hoy/Given and signed this 14th day of December, 2004

en/in Osaka, Japan

por/by

Firma Hiroshi Akimoto Ph. D. Signature
Executive Director
Member of the Board, General Manager,
Intellectual Property Dept.
Authorized Signing Officer

© CAVELIER ABOGADOS

APOSTILLE

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1. Country: **JAPAN**

   This public document

2. has been signed by — Kiyoomi FUJITA
3. acting in the capacity of — Notary Public of the Osaka Legal Affairs Bureau
4. bears the seal/stamp of — Kiyoomi FUJITA, Notary Public

Certified

5. at **Osaka**
6. DEC. 17. 2004
7. by **the Ministry of Foreign Affairs**
8. No. 04149
9. Seal/stamp:
10. Signature:

Tsutomu HIGUCHI

For the Minister for Foreign Affairs

大阪法務局所属　公証人役場

認証登簿　平成１６年 第　334　号

嘱託人 武田薬品工業株式会社 常務取締役　知的財産部長 秋元浩は、本職の面前でこの証書に署名した。

よって、その署名が本人の自筆であることを証する。

平成　16　年　12　月　14　日

大阪市西区江戸堀１丁目１０番８号（帝人殖産ビル内）

公証人　藤田清臣　役場において

大阪法務局所属

公証人　藤田清臣

REGISTER NUMBER 334 / 2004

I hereby certify that this document was signed before me and that the signature appearing on the same is the true signature of Hiroshi Akimoto, Ph. D., Executive Director, Member of the Board, General Manager, Intellectual Property Department of Takeda Pharmaceutical Company Limited.

Dated this 14th day of December, 2004

10-8, Edobori 1-chome,
Nishi-ku, Osaka, Japan.

Kiyoomi Fujita

Kiyoomi Fujita
Notary attached
to The Osaka Legal
Affairs Bureau

総第 3603 号

証　　明

大阪法務局所属公証人　藤田清臣

平成 16 年 12 月 14 日付

平成16年 登簿 第 334 号

この認証の付与は，在職中の公証人がその権限に基づいてしたものであり，かつ，その押印は，真実のものであることを証明する。

平成16年12月17日
平成　　年　　月　　日

大阪法務局長　梅津和宏

CERTIFICATE

This is to certify that the annexed Notarial Certificate has been executed by Notary,duly authorized and practising in Osaka, Japan, and that the Official seal appearing on the same is genuine.

Date 04.12.17

Director of the Osaka Legal Affairs Bureau

THE OSAKA CHAMBER OF COMMERCE & INDUSTRY

2-8 HOMMACHIBASHI, CHUO-KU, OSAKA 540-0029, JAPAN
FAX : (06)6944-6248 TEL : (06)6944-6411
URL : http://www.osaka.cci.or.jp/

November 17, 2004

To whom it may concern:

CERTIFICATE OF MEMBERSHIP

This is to certify that the undermentioned company is registered as a member of this Chamber.

Company name: Takeda Pharmaceutical Company Limited

(The former company name in English was Takeda Chemical Industries, Ltd. until June 29, 2004.)

Address: 1-1, Doshomachi 4-chome, Chuo-ku, Osaka, Japan

Membership Number: KT-01-00080

The Osaka Chamber of Commerce & Industry

Yoshinobu Kobayashi
Authorized Signatory

EMBAJADA DE COLOMBIA - SECCION CONSULAR

Tokio, Japón, DICIEMBRE 20, 2004
No. 299

El encargado de las funciones consulares de Colombia

CERTIFICA:

Que el (la) Señor(a) YOSHINOBU KOBAYASHI, quien autoriza el presente documento , es la persona legalmente facultada para representar en la fecha señalada al (a la) CAMARA DE COMERCIO E INDUSTRIA, OSAKA y que la firma y sello que en el documento aparecen como suyos son las que usa y acostumbra para sus actos oficiales.

El Encargado de Funciones Consulares no asume responsabilidad alguna por el contenido del documento.

Firma del Encargado de Funciones Consulares)

Derechos: US$23.oo

RAFAEL RICARDO OROZCO
Segundo Secretario

AU SE ASUNTOS
RESPONSABILIDAD DEL

2005 FEB -14 A 2:37

JEFE DE LEGALIZACIONES
SANTAFE DE BOGOTA D.C.

J DE RELACIONES
ERIORES

085749

FIRMA APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPEÑA
S FUNCIONES INDICADAS

TRADUCCIÓN OFICIAL No. 02.04/05b realizada por Diego Vargas, Traductor Oficial, Resolución No. 0001 de 1999 del Ministerio de Justicia y registrado ante el Ministerio de Relaciones Exteriores de Colombia.

A continuación se traducen los sellos y legalizaciones de un documento por medio del cual **TAKEDA PHARMACEUTICAL COMPANY LIMIMTED** domiciliado en el 1-1, Doshomachi 4-chome, Chuo-ku, Osaka-shi, Osaka, Japón, otorga derechos de Representación y Poder a los Doctores EMILIO FERRERO, tpa. 31929; GONZALO PERDOMO, tpa. 831; LUZ CLEMENCIA DE PÁEZ, tpa. 23555; y GERMÁN CAVELIER, tpa. 832, domiciliados en la Carrera 4 No. 72-35, Bogotá, Colombia.

Dado y firmado el 14 de diciembre de 2004 en Osaka, Japón.

Firma Ilegible

Firma Hiroshi Akimoto Ph. D.
Director Ejecutivo
Miembro de la Junta, Gerente General,
Departamento de Propiedad Intelectual
Signatario Autorizado

REGISTRO NÚMERO **334** / 2004

Por el presente certifico que este documento fue firmado ante mí y que la firma que aparece en el mismo es la firma auténtica de Hiroshi Akimoto, Ph. D., Director Ejecutivo, Miembro de la Junta, Gerente General, Departamento de Propiedad Intelectual de Takeda Pharmaceutical Company Limited.

Expedido hoy 14 de diciembre de 2004

10-8, Edobori 1-chome

Nishi-ku, Osaka, Japón

Firma ilegible

Kiyoomi Fujita
Notario adjunto a la
Oficina de Asuntos Legales de Osaka

DOCUMENTO ANTERIOR EN JAPONÉS

(Anexo)

Texto en Japonés

CERTIFICADO

El presente es para certificar que el Certificado Notarial anexo ha sido suscrito por un notario debidamente autorizado y en ejercicio en Osaka, Japón, y que el sello oficial que aparece en el mismo es auténtico.

Fecha: 04.12.17

Director de la Oficina de Asuntos Legales de Tokio

APOSTILLA

(Convention de La Haye du 5 octubre 1961)

1. País: **JAPÓN**
   Este documento público
2. ha sido firmado por Kiyoomi FUJITA
3. actuando en calidad de Director de la Oficina de Asuntos Legales de Tokio
4. lleva el sello/estampilla de Kiyoomi FUJITA, Notario Público

Certificado

5. en **Osaka** 6. DIC 17 DE 2004

7. por el **Ministerio de Relaciones Exteriores**

8. **No. 04149**

DIEGO F. VARGAS
TRADUCTOR E INTERPRETE OFICIAL
ESPAÑOL - INGLES – INGLES - ESPAÑOL
RES. 0001 DE ENERO 4 DE 1999
MINISTERIO DE JUSTICIA

9. **Sello/estampilla** 10. **Firma:**

MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES · JAPÓN ·

Firma Ilegible

Tsutomu HIGUCHI

Por el Ministro de Relaciones Exteriores

LA CÁMARA DE COMERCIO E INDUSTRIA DE OSAKA
2-8 HOMMACHIBASHI, CHUO-KU, OSAKA 540-0029, JAPÓN
FAX: (06) 6944-6248 TEL: 6944-~~5413~~ 6411
URL: http://www.osaka.cci.or.jp/

Noviembre 17 de 2004

A quién pueda interesar:

CERTIFICADO DE MEMBRESÍA

El presente es para certificar que la siguiente compañía está registrada como miembro de esta Cámara.

Nombre de la compañía: Takeda Pharmaceutical Company Limited

(El nombre anterior de la compañía en inglés fue Takeda Chemical Industries, Ltd. hasta el 29 de junio de 2004.)

Dirección: 1-1, Doshomachi 4-chome, Chuo-ku, Osaka, Japón

Número de Membresía: KT-01-00080

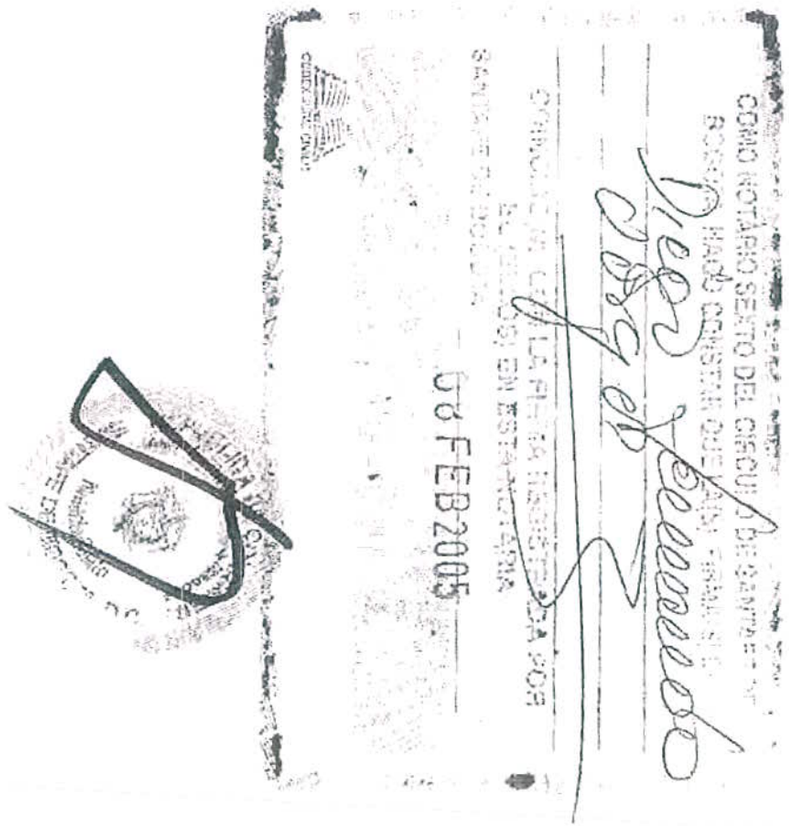
MINISTERIO DE
RELACIONES EXTERIORES

313391

Diego Vargas
ESTA FIRMA APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPEÑA
LAS FUNCIONES INDICADAS

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2005 FEB -8 P 2:39
UCS
JEFE DE LEGALIZACIONES
BOGOTA D.C.



La Cámara de Comercio e Industria de Osaka

Firma Ilegible

Yoshinobu Kobayashi

Signatario Autorizado

(Respaldo)

Certificado No. 299 del 20 de diciembre de 2004 expedido por la EMBAJADA DE COLOMBIA en Tokio, Japón, en donde se certifica que YOSHINOBU KOBAYASHI está legalmente facultado para firmar a nombre de la Cámara de Comercio e Industria de Osaka y que su firma en el anterior documento es auténtica.

Firmado por RAFAEL RICARDO OROZCO, Segundo Secretario.

Pagados los derechos consulares.

Legalización de la firma anterior con el **No. 085749** expedida por el Jefe de Legalizaciones del Ministerio de Relaciones Exteriores en Santafe de Bogotá el 4 de febrero de 2005.

Es traducción fiel y completa de la cual se deja copia en esta oficina para su confrontación.

DVZ/ID-6472/WPCL002G/COLO 14656-845-001-0

Diego F. Vargas

DIEGO F. VARGAS Z.

TRADUCTOR E INTERPRETE OFICIAL

ESPAÑOL - INGLES – INGLES - ESPAÑOL

RES. 0001 DE ENERO 4 DE 1999

MINISTERIO DE JUSTICIA

MINISTERIO DE
RELACIONES EXTERIORES

313395

Diego Urrego
COYA FIRMA APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPEÑA
LAS FUNCIONES INDICADAS

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2005 FEB -8 P 2:40

JEFE DE LEGALIZACIONES
BOGOTA D.C.

COMO NOTARIO SEXTO DEL CIRCULO DE SANTAFE DE
BOGOTA, HAGO CONSTAR QUE LA(S) FIRMA(S)
Diego Urrego
QUE APARECE(N) EN LA PRESENTE AUTENTICACION
ES (SON) AUTENTICA(S) COMPARECIO(EN)
SANTAFE DE BOGOTA, 08 FEB 2005

REPUBLICA DE COLOMBIA
Hondo Blanco
SANTAFE DE BOGOTA D.C.

CAVELIER
ABOGADOS

WEB SITE: www.cavelier.com
E-MAIL: cavelier@cavelier.com

EDIFICIO SISKI
CARRERA 4 No. 72 - 35
BOGOTA 8, COLOMBIA

TELEFONO: (57) (1) 347-3611
TELEFAX: (57) (1) 217-9211 (57) (1) 310-4995

Señores

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

E. S. D.

Poderdante : **TAKEDA PHARMACEUTICAL COMPANY LIMITED**

Poder conferido el : 14/12/2004

Yo, EMILIO FERRERO, obrando como apoderado principal del poderdante arriba mencionado, mediante el presente escrito sustituyo el poder a mi otorgado a la doctora LUZ CLEMENCIA DE PAEZ, identificada con cédula de ciudadanía No. 35.456.344 y Tarjeta Profesional N°23.555, con todas las facultades que me fueron conferidas.

Hago la anterior sustitución conforme al artículo 66 del Código de Procedimiento Civil.

Señora Jefe,

EMILIO FERRERO
T.P.A. N° 31.929
C.C. N° 438.019 de Usaquén

Acepto:

LUZ CLEMENCIA DE PAEZ
T.P.A. N° 23.555
C.C. No. 35.456.344 de Usaquén

NOTARIA SEXTA DE BOGOTA

RECONOCIMIENTO Y PRESENTACION PERSONAL

Bogotá, D.C. 05 NOV 2009

Ante mi AMPARO QUINTERO ARTURO,

NOTARIA SEXTA DEL CÍRCULO DE BOGOTÁ D.C.

Comparecio(aron) Emilio Gomez Williamson Luis Carmencita Suarez de Ruiz

Quien(es) exhibió(eron) la(s) C.C. 458019 TP 81429 3045634 TP 23565

Y declaró(aron) que la(s) firma(s) que aparece(n) en el presente documento es(son) la(s) suya(s) y que el contenido del mismo es cierto.

En constancia se firma esta diligencia.

Emilio Gomez
Luz Clemencia Suarez

REPÚBLICA DE COLOMBIA
Amparo Quintero Arturo
NOTARIA
NOTARIA SEXTA DE BOGOTÁ

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
NIT : 800.176.089-2
- / -

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 13 - 0014244

Bogotá D.C., Febrero 13 de 2013 - 10:45:43

RECIBIDO DE : CAVELIER ABOGADOS NI 860.041.367

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	197827836	13/02/2013	34.841.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO	Vr.CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	2205 DIVISIONAL SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCION CONT. DERE	450.000.00	450.000.00
				$450.000.00

SON: **CUATROCIENTOS CINCUENTA MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***

Responsable: _____
-*****-

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 10-026475- -00006-0000
Fecha: 2013-03-06 16:22:04 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 523 RESPUESTA Folios: 296

COJO: 14656-841-105-3

296

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
NIT : 800.176.089-2
- / -

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 13 - 0022291

Bogotá D.C., Marzo 06 de 2013 - 07:06:31

RECIBIDO DE : CAVELIER ABOGADOS NI 860.041.367

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	196871905	05/03/2013	19.939.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO	Vr.CONCEPTO
12	50005-01-01 SOLICITUDES	1607 REIVINDICACION PATENTE UNITARIA ADICIONAL A LAS 10 INIC	30.000.00	360.000.00
				$360.000.00

SON: **TRESCIENTOS SESENTA MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***

Responsable: _____
-******-

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 10-026475- -00006-0000
Fecha: 2013-03-06 16:22:04 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 523 RESPUESTA Folios: 296

2010: 14656 - 841 - 105-3