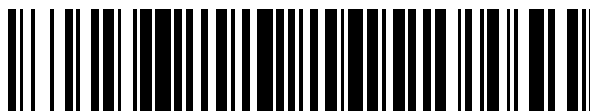


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 491 140**

51 Int. Cl.:

C07D 207/08 (2006.01)

C07D 405/04 (2006.01)

A61K 31/4025 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.06.2006** **E 06765803 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.06.2014** **EP 2046738**

54 Título: **Derivados de flavona enantioméricamente puros para el tratamiento de trastornos proliferativos y procesos para su preparación**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
05.09.2014

73 Titular/es:

PIRAMAL ENTERPRISES LIMITED (100.0%)
Piramal Tower, Ganpatrao Kadam Marg, Lower
Parel
Mumbai 400 013, IN

72 Inventor/es:

SIVAKUMAR, MEENAKSHI;
MASCARENHAS, MALCOLM;
SARDE, ANKUSH;
JADHAV, PRAMOD KUMAR;
SHUKLA, MANOJ;
JOSHI, KALPANA y
RATHOS, MAGGIE

74 Agente/Representante:

LLAGOSTERA SOTO, María Del Carmen

ES 2 491 140 T3

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

Descripción**Campo de la invención**

La presente invención se refiere a (+)-*trans* enantiómero enantioméricamente puro de pirrolidinas sustituidas con flavonas representado por la fórmula (I), a los compuestos
5 intermedios enantioméricamente puros de los mismos, a los procedimientos para su respectiva preparación, a su uso como ingredientes activos en productos farmacéuticos, en particular para el tratamiento de trastornos proliferativos tales como el cáncer, y a composiciones farmacéuticas que comprenden los mismos.

10 Antecedentes de la invención

Los reguladores del ciclo celular han adquirido una importancia generalizada en las enfermedades proliferativas. Las quinasas dependientes de ciclina (CDK) son una familia de enzimas que se activan en fases específicas del ciclo celular.

Una amplia variedad de enfermedades se caracterizan por una proliferación celular
15 incontrolada que constituye el resultado de algún defecto en las rutas reguladoras en el ciclo celular [por ejemplo, la sobreexpresión de ciclinas o deleciones de genes que codifican CKI (proteínas inhibidoras de CDK)]. La sobreexpresión de ciclina D1 conduce a la desregulación de la actividad de la quinasa CDK4- D1 y de ese modo contribuye a la proliferación celular incontrolada. Con el conocimiento de la función de
20 las CDK en la regulación del ciclo celular y el descubrimiento de que aproximadamente el 90% de todas las neoplasias están asociadas con la hiperactivación de CDK que conduce a la inactivación de la ruta de Rb, las CDK son objetivos atractivos para el desarrollo de fármacos anti-tumorales.

El papel prominente de los complejos de quinasa de CDK/ciclina, en particular complejos de quinasa CDK4 / ciclina D1, en la inducción de la proliferación celular y su desregulación en tumores, los convierte en objetivos ideales para el desarrollo de agentes antiproliferativos altamente específicos.

- 5 El flavopiridol y sus análogos son bien conocidos como inhibidores de CDK eficaces y ofrecen un enfoque potencial para la terapia anti-proliferativa.

La solicitud publicada en trámite de la patente no. US 2004/0106581 del solicitante describe nuevos compuestos útiles en la inhibición de las CDK y que tienen una selectividad y una citotoxicidad óptimas frente a diversas líneas celulares proliferativas.

- 10 Esta solicitud de patente se incorpora aquí como referencia en su totalidad. Los nuevos compuestos descritos en la solicitud de patente anteriormente mencionada, tienen dos centros quirales y por lo tanto, pueden existir como cuatro enantiómeros, es decir, (+)-*trans*, (-)-*trans*, (+)-*cis* y (-)-*cis*.

- Es bien conocido en la técnica que los enantiómeros de un compuesto químico
15 determinado, a pesar de compartir una composición química idéntica, pueden tener acciones muy diferentes cuando se colocan en los sistemas biológicos. A menudo se produce el caso de que un enantiómero proporciona los efectos beneficiosos, mientras que el enantiómero opuesto puede ser perjudicial o inerte. Por lo tanto, las ventajas asociadas con la administración de la mezcla racémica pueden mantenerse mediante el
20 uso de un único enantiómero del compuesto y sin efectos secundarios adversos asociados.

Los estudios establecen específicamente que la actividad inhibidora de las CDK y la actividad antiproliferativa son debidas al (+)- *trans*- enantiómero de pirrolidinas

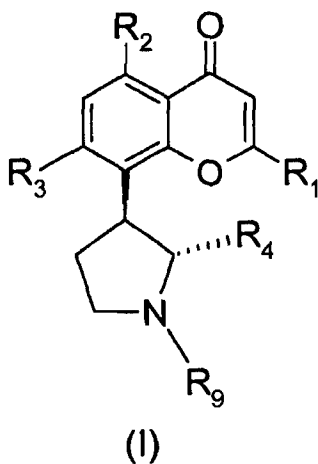
sustituidas con flavonas representado por la fórmula (I) más que el (-) *-trans-enantiómero*.

Sería deseable que el (+)-*trans* enantiómero de pirrolidinas sustituidas con flavonas y los compuestos de fórmula (I), estuviesen disponibles en una forma sustancialmente
 5 libre de su (-)-*trans* enantiómero para proporcionar un método seguro y eficaz para el tratamiento de enfermedades o trastornos mediados por la inhibición de las quinasas dependientes de ciclina (CDK), así como para el tratamiento de enfermedades asociadas con la proliferación celular excesiva tales como el cáncer.

En vista de este hallazgo, los presentes inventores han desarrollado un nuevo proceso
 10 para la preparación de un (+)- *trans- enantiómero* enantioméricamente puro de pirrolidinas sustituidas con flavonas representado por la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

Resumen de la invención

15 La presente invención se refiere a un compuesto enantioméricamente puro representado por la siguiente fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



donde las definiciones de R₁, R₂, R₃, R₄ y R₉ se proporcionan a continuación en la descripción detallada.

Esta invención también se refiere a un procedimiento para la preparación del compuesto
5 enantioméricamente puro de la fórmula (I), o a una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. El proceso produce el (+)-*trans* enantiómero con alta pureza química y enantiomérica y con un alto rendimiento.

Esta invención también se refiere a productos intermedios utilizados en el proceso para la preparación del compuesto enantioméricamente puro de la fórmula (I).

10 Esta invención se refiere además a un procedimiento para la resolución de un compuesto de fórmula (VIA) y sus derivados, cuyo compuesto es un producto intermedio clave para la preparación del compuesto enantioméricamente puro de la fórmula (I).

Esta invención se refiere además a una composición farmacéutica para el tratamiento de
15 una enfermedad o un trastorno en un mamífero, mediado por la inhibición de las CDK, que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto enantioméricamente puro de la fórmula (I) o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, como el ingrediente activo, y un soporte farmacéuticamente aceptable.

Esta invención se refiere además a una composición farmacéutica para el tratamiento de
20 una enfermedad o un trastorno en un mamífero, asociado con la proliferación celular excesiva, que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto enantioméricamente puro de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como ingrediente activo, y un soporte farmacéuticamente aceptable.

Esta invención se refiere además a un compuesto (I) para su utilización en un método para el tratamiento de una enfermedad o un trastorno mediado por la inhibición de CDK en un mamífero en necesidad del mismo, que comprende administrar a dicho mamífero
 5 una cantidad eficaz de (+)- *trans* enantiómero enantioméricamente puro de un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Esta invención se refiere además a un compuesto (I) para su utilización en un método para el tratamiento de una enfermedad o un trastorno en un mamífero, asociado con la proliferación celular excesiva, que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz del
 10 compuesto enantioméricamente puro de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como ingrediente activo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS:

15 Figura 1: HPLC quiral (Chiralcel OD-H (250 x 4.6 mm) de Columna) de (-)-*trans*-[1 - metil-3-(2,4,6-trimetoxifenil)-pirrolidin- 2-il]-metanol obtenido tal como se describe en el Ejemplo 5.

Figura 2: HPLC quiral (Chiralcel OD-H (250 x 4.6 mm) de Columna) de (-)-*trans*-[1 - metil-3-(2,4,6-trimetoxifenil)-pirrolidin-2-il]-metanol obtenido tal como se describe en
 20 el Ejemplo 98 (método de la técnica anterior).

Figura 3: HPLC quiral (Chiralcel OD-H (250 x 4.6 mm) de Columna) de (+) -*trans*-(2-clorofenil) -5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metil -pirrolidin-3-il) - cromen-4-ona clorhidrato obtenido tal como se describe en el Ejemplo 10.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Los compuestos de la fórmula (I) de la presente invención resultan útiles en la inhibición de las CDK, en particular los complejos de CDK4/ciclina D1 y encuentran su uso en terapias anti-proliferativas para enfermedades caracterizadas por el crecimiento celular excesivo tales como cánceres, anomalías cardiovasculares, inflamación y artritis, trastornos nefrológicos, parasitología, psoriasis, la enfermedad de Alzheimer, trastornos inmunológicos que implican una proliferación no deseada de leucocitos, restenosis y otros trastornos proliferativos del músculo liso, infecciones virales e infecciones micóticas.

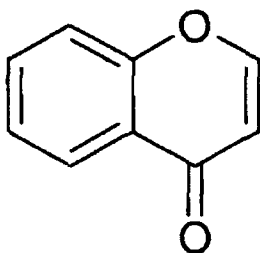
- 10 La presente invención se dirige específicamente a un compuesto enantioméricamente puro de la fórmula (I) y a una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Tal como se menciona anteriormente en esta memoria, los compuestos descritos en tramitación junto con la solicitud publicada de la patente del solicitante no. US 2004/0106581 tienen dos centros quirales y, por lo tanto, pueden existir como cuatro enantiómeros, a saber (+)-*trans*, (-)-*trans*, (+)-*cis* y (-)-*cis*. Más específicamente, la presente invención se refiere a un (+)- *trans* enantiómero enantioméricamente puro de pirrolidinas sustituidas con flavonas representado en este documento por la fórmula (I).

- 20 La eficacia del compuesto racémico descrito en la solicitud publicada de la patente n° US 2004/0106581 y sus enantiómeros separados ha sido estudiada ampliamente por los presentes inventores. Se ha observado que sólo el (+)-*trans*- enantiómero es activo. La presente invención ha hecho posible la provisión de un (+)-*trans* enantiómero enantioméricamente puro representado en este documento por la fórmula (I), permitiendo de este modo una posible reducción en la dosis requerida del medicamento y sus efectos secundarios.

A continuación se enumeran las definiciones de diversos términos utilizados para describir los compuestos de la presente invención. Estas definiciones se aplican a los términos tal como se utilizan a lo largo de toda la memoria (a menos que se limiten de otra manera en casos específicos) ya sea individualmente o como parte de un grupo más grande.

No deben ser interpretadas en el sentido literal. No son definiciones generales y sólo son de aplicación para esta solicitud.

Los términos "flavona" o "cromona" o sus análogos significan compuestos que pueden ser representados por la siguiente estructura básica:



10

Tal como se utiliza en el presente documento, el término "alquilo" se refiere al radical de grupos alifáticos saturados, incluyendo grupos alquilo de cadena lineal y grupos alquilo de cadena ramificada. Además, a menos que se indique lo contrario, el término "alquilo" incluye grupos alquilo no sustituidos así como grupos alquilo que son sustituidos por uno o más sustituyentes distintos.

15

Ejemplos de residuos alquilo que contienen de 1 a 20 átomos de carbono son: metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo, hexilo, heptilo, octilo, nonilo, decilo, undecilo, dodecilo, tetradecilo, hexadecilo, octadecilo y eicosilo, los n-isómeros de todos estos residuos, isopropilo, isobutilo, 1-metilbutilo, isopentilo, neopentilo, 2,2 - dimetilbutilo, 2-

metilpentilo, 3-metilpentilo, isohexilo, 2,3,4- trimetilhexilo, isodecilo, sec-butilo, o terc-butil .

El término "alcoxi" tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo, tal como se define anteriormente, que tiene un radical oxígeno unido al mismo.

- 5 Los grupos alcoxi representativos incluyen metoxi, etoxi, propoxi, *t*-butoxi y similares.

Los términos "alquenilo" se refieren a grupos alifáticos insaturados análogos en longitud y posible sustitución a los alquilos descritos anteriormente, pero que contienen al menos un doble enlace, por ejemplo 1, 2 o 3 dobles enlaces, siempre que los dobles
10 enlaces no se encuentren dentro de un grupo alquilo cíclico de tal manera que resulte un sistema aromático. Los ejemplos de grupos alquenilo incluyen vinilo, 1-propenilo, 2-propenilo, 2-butenilo, 2-metil-1-propenilo o 3-metil-2-butenilo.

Además, a menos que se indique lo contrario, los términos "alquenilo" incluyen grupos alquilo no sustituido y sustituido.

- 15 El término "arilo" tal como se utiliza en el presente documento se refiere a grupos de hidrocarburo monocíclicos o policíclicos que tienen hasta 14 átomos de carbono en el anillo, en el que se encuentra presente al menos un anillo carbocíclico que tiene un sistema de electrones π conjugado. Ejemplos de residuos de (C_6 - C_{14}) arilo son fenilo, naftilo, bifenilo, fluorenilo o antracenilo. Ejemplos de residuos de (C_6 - C_{10}) arilo son
20 fenilo o naftilo. A menos que se indique lo contrario, y con independencia de cualesquiera sustituyentes específicos unidos a los grupos arilo que se indican en la definición de los compuestos de fórmula (I), los residuos de arilo, por ejemplo fenilo, naftilo o fluorenilo, pueden en general estar sin sustituir o ser sustituidos por uno o más, por ejemplo 1, 2, 3, 4 o 5, sustituyentes idénticos o diferentes. A menos que se indique

lo contrario, los sustituyentes que pueden encontrarse presentes en grupos arilo sustituidos son: halógeno, alquilo, alqueno, alquino, fluorometilo, difluorometilo, trifluorometilo, hidroxilo, arilo, amina, ciano, nitro, tiol, imina, amida o carbonilo (como por ejemplo carboxilo, formiato, carbamida, éster, cetona o aldehído), sulfhidrilo, éter de sililo, tiocarbonilo (como por ejemplo tioéster, tioacetato o tioformiato), sulfonilo, éster de aminoácido, o un heterociclo que esté saturado, parcialmente insaturado o aromático. Los residuos de arilo pueden estar unidos a través de cualquier posición deseada, y en residuos arilo sustituidos los sustituyentes pueden estar situados en cualquier posición deseada.

- 10 El término "heterociclo" se refiere a un anillo saturado, parcialmente insaturado o aromático que contiene cinco o seis átomos de anillo de los cuales 1, 2 o 3 son heteroátomos idénticos o diferentes seleccionados entre: nitrógeno, oxígeno y azufre, y donde el heterociclo está sin sustituir o es sustituido por 1, 2 o 3 sustituyentes idénticos o diferentes seleccionados entre: halógeno, nitro, ciano, SR₇, C₁C₄ alquilo, fluorometilo, difluorometilo, trifluorometilo, C₁-C₄-alcoxi, hidroxilo, carboxi, C₁-C₄-alcoxycarbonilo, C₁C₄-alquilenhidroxil, CONH₂, CONR₅R₆, SO₂NR₅R₆, cicloalquilo, NR₅R₆.

El término "heteroátomo" tal como se utiliza en el presente documento significa un átomo de cualquier elemento distinto de carbono o hidrógeno. Los heteroátomos preferidos son nitrógeno, oxígeno, azufre y fósforo.

- 20 Halógeno es flúor, cloro, bromo o yodo, preferiblemente flúor, cloro o bromo.

Se entenderá que "sustitución" o "sustituido con" incluye la condición implícita de que tal sustitución está de acuerdo con la valencia permitida del átomo sustituido y el sustituyente, así como que representa un compuesto estable, que no sufre fácilmente transformación tal como, por ejemplo, reorganización, ciclación, eliminación, etc.

Cabe señalar que cualquier heteroátomo con valencias no satisfechas se asume que tiene el átomo de hidrógeno para satisfacer las valencias.

El término "racémico" o "racemato", y otros términos similares se refieren a
5 proporciones generalmente equimolares de un (+)-enantiómero y un (-)-enantiómero de un compuesto en una composición.

El término "*enantioméricamente puro*" se refiere a un compuesto o compuestos que está o están presentes en un exceso enantiomérico superior al 95%. Preferiblemente, el exceso enantiomérico es superior al 97%. Más preferiblemente, el exceso enantiomérico
10 es superior al 99%.

El término "*exceso enantiomérico*" se refiere a una diferencia entre la cantidad de un enantiómero y la cantidad del otro enantiómero que se encuentra presente en la mezcla de productos. Así, por ejemplo, el exceso enantiomérico del 96% se refiere a una mezcla de producto que tiene un 98% de un enantiómero y un 2% del otro enantiómero.

15 El término "sustancialmente libre" significa que la cantidad del *trans*-(+) enantiómero predomina en la composición en relación con el (-)-*trans* enantiómero del compuesto de la fórmula (I). Más específicamente, esto significa que la cantidad de (+)-*trans*-enantiómero en relación con el (-)- *trans* enantiómero en peso es al menos aproximadamente del 95%, más preferiblemente superior al 97%.

20 Tal como se utiliza en el presente documento, el término "*profármacos*" se refiere a formas de compuestos que se transforman in vivo en el compuesto parental de acuerdo con la invención, por ejemplo, por hidrólisis en la sangre. Por lo tanto, los profármacos son compuestos que contienen grupos que se eliminan mediante biotransformación

antes de exhibir su acción farmacológica. Tales grupos incluyen fracciones que se escinden fácilmente in vivo a partir del compuesto que las contiene, compuesto que después de la escisión sigue siendo o se vuelve farmacológicamente activo. Dichos grupos metabólicamente escindibles forman una clase bien conocida para los expertos en la técnica.

El término "sal(es) farmacéuticamente aceptable(s)", tal como se utiliza en el presente documento, a menos que se indique lo contrario, incluye sales de grupos ácidos o básicos del compuesto de la invención, cuyos grupos son capaces de formar sales. En el caso de que los compuestos de acuerdo con la fórmula (I) contengan uno o más grupos ácidos o básicos, la invención también comprende sus correspondientes sales farmacéutica o toxicológicamente aceptables. Los compuestos de la fórmula (I) que contienen uno o más grupos básicos, es decir grupos que pueden ser protonados y se pueden utilizar de acuerdo con la invención en la forma de sus sales de adición con ácidos inorgánicos u orgánicos no tóxicos. Los ejemplos de ácidos inorgánicos adecuados incluyen: ácido bórico, ácido perclórico, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido sulfámico, ácido fosfórico, ácido nítrico y otros ácidos inorgánicos conocidos para el experto en la técnica. Los ejemplos de ácidos orgánicos adecuados incluyen: ácido acético, ácido propiónico, ácido succínico, ácido glicólico, ácido glucónico, ácido esteárico, ácido láctico, ácido málico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido ascórbico, ácido pamoico, ácido maleico, ácido hidroximaleico, fenilacético ácido, ácido glutámico, ácido benzoico, ácido salicílico, ácido sulfanílico, ácido 2-acetoxibenzoico, ácido fumárico, ácido toluenosulfónico, ácido metanosulfónico, ácido etano disulfónico, ácido oxálico, ácido isetiónico, ácido cetoglutárico, ácido bencenosulfónico, ácido glicerofosfórico y otros ácidos orgánicos conocidos por las personas expertas en la técnica. Los compuestos de la fórmula (I) que

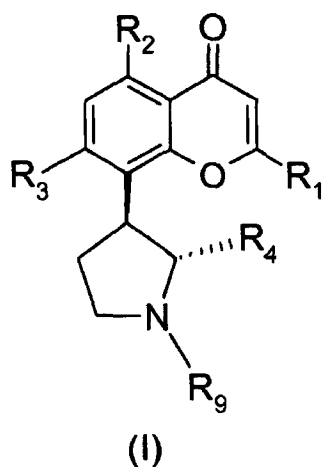
contienen grupos ácidos se pueden utilizar de acuerdo con la invención, por ejemplo, como sales de metales alcalinos como sales de litio (Li), sales de sodio (Na), y sales de potasio (K). Las sales farmacéuticamente aceptables de la presente invención se pueden sintetizar a partir del compuesto objeto que contiene una fracción básica o ácida

5 mediante procedimientos químicos convencionales. Generalmente las sales se preparan poniendo en contacto la base o ácido libre con cantidades estequiométricas o con un exceso del ácido o base inorgánico u orgánico formador de sal deseado en un disolvente o dispersante adecuado o mediante intercambio aniónico o intercambio catiónico con otras sales. Los disolventes adecuados son, por ejemplo, acetato de etilo, éter, alcoholes,

10 acetona, THF, dioxano o mezclas de estos disolventes.

Cuando la estereoquímica se muestra en las estructuras representa una configuración relativa, más que absoluta.

La presente invención se refiere a un compuesto enantioméricamente puro representado por la siguiente fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;



15

en que,

R₁ es fenilo, que es sustituido por 2 sustituyentes distintos: cloro o, trifluorometilo;

R₂ y R₃ se seleccionan cada uno independientemente entre: halógeno, hidroxilo y OR₈; en que R₈ es C1-C10 alquilo no sustituido;

5 R₄ es C₁-C₄-alquilenehidroxilo; y

R₉ es C₁-C₄ alquilo; en que el término “enantioméricamente puro” se refiere a un compuesto que se encuentra presente en un exceso enantiomérico superior al 95%.

De acuerdo con la presente invención, el compuesto enantioméricamente puro más preferido de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se

10 selecciona entre:

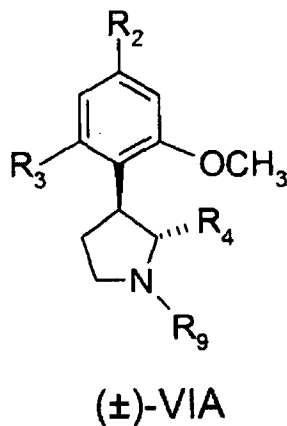
(+)- *trans*-2-(2-Cloro-4-trifluorometilfenil) -8 - (2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il) -5,7 - dimetoxi-cromen-4-ona;

(+)- *trans*-2-(2-Cloro-4-trifluorometilfenil) -5,7- dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il) -cromen-4-ona;

15 (+)- *trans*-2-(2-Cloro-4-trifluorometilfenil) -5,7- dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il) -cromen-4-ona clorhidrato;

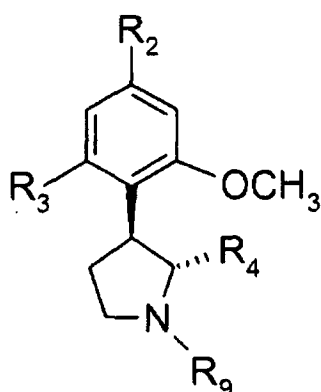
De acuerdo con otra realización de la presente invención, se proporciona un procedimiento para la preparación de un compuesto enantioméricamente puro de la fórmula (I). Un método conocido en la técnica proporciona un único enantiómero
20 mediante la separación de una mezcla racémica del compuesto al final de la secuencia de reacción. El planteamiento presente es separar enantiómeros varios pasos antes en la secuencia y de ese modo proporcionar un proceso eficiente. Los presentes inventores

han identificado un compuesto racémico representado por la fórmula (VIA) indicada a continuación como ideal para la separación.



en la que R_2 , R_3 , R_4 y R_9 son tal como se definen, o una sal farmacéuticamente
5 aceptable de los mismos.

El proceso de resolución comprende hacer reaccionar un compuesto racémico representado por la fórmula ((±)-VIA) con un auxiliar quiral en presencia de un solo disolvente para obtener la correspondiente mezcla de sales diastereméricas de los (+) - y (-)- enantiómeros de un compuesto de la fórmula (VIA), separando las respectivas sales
10 diastereoméricas y tratando la sal diastereomérica del (-) - enantiómero con una base para obtener la base libre del (-)-enantiómero deseado del compuesto representado por la siguiente fórmula.

**VIA****(-)- enantiómero**

En el proceso de resolución, se selecciona el auxiliar quiral a partir de: (-)-dibenzoil
 5 ácido tartárico ((-)-DBTA), (+)-dibutil ácido tartárico, (-)- dibutil ácido tartárico, (+)-
 ácido ketopínico, (-)- ácido ketopínico, (+)- canfor-10- ácido sulfónico, (-)- canfor-10-
 ácido sulfónico, (+) ácido canfórico y (-) -ácido canfórico. El auxiliar quiral más
 preferido es (-)- dibenzoil ácido tartárico ((-)-DBTA).

El único disolvente utilizado en la etapa de resolución se puede seleccionar entre:
 10 metanol, isopropanol, éter diisopropílico, acetato de etilo y cloroformo. El disolvente
 más preferido es metanol.

La base puede seleccionarse a partir de: bicarbonato de sodio, carbonato de sodio y
 carbonato de potasio. La base más preferida es carbonato de sodio.

Más específicamente, existe un proceso para la resolución de un compuesto racémico de
 15 fórmula (VIA), en la que R₂ y R₃ son metoxi, R₉ es metilo y R₄ es hidroximetilo, el
 compuesto que se conoce químicamente como (±)-*trans*-[1- metil-3-(2,4,6-trimetoxi-
 fenil)-pirrolidin-2-il] metanol (designado aquí como Compuesto A).

Un proceso para la resolución del compuesto A se describe en la solicitud de patente publicada en trámite nº US 2004/010658 del solicitante. Este proceso implica numerosas etapas de cristalización y recristalización. El compuesto resuelto (-)-*trans*-[1-
5 metil-3-(2,4,6-trimetoxi-fenil)-pirrolidin-2-il]-metanol (designado aquí como Compuesto B) se obtuvo con un rendimiento del 22 - 30% y la rotación óptica obtenida fue de -17.7° (c = 1.1, metanol).

Un proceso que implica la resolución del compuesto intermedio de la fórmula (VIA), específicamente el compuesto A, comprende hacer reaccionar el compuesto A con (-)-
10 DBTA ((-)-dibenzoil ácido tartárico) como un metanol de quiral auxiliar para proporcionar las sales de dibenzoil tartrato cristalizadas de (+) - y (-) - *trans*-[1-metil-3-(2,4,6-trimetoxi-fenil) - pirrolidin-2-il]-metanol, separando las respectivas sales diastereoméricas y convirtiendo la sal de (-)- dibenzoil-tartrato del compuesto B en su base libre mediante el tratamiento con carbonato de sodio.

15 La pureza enantiomérica del compuesto B obtenida por el procedimiento de la presente invención se evaluó y se comparó con la obtenida mediante el proceso de resolución indicado en la solicitud publicada de la patente nº US 2004/0106581 anteriormente mencionada utilizando HPLC quiral. Se estableció que el compuesto B obtenido de acuerdo con el procedimiento de la presente invención es un solo isómero con un 100%
20 de e.e., mientras que el compuesto B obtuvo un 88.3% de e.e. cuando se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en la Solicitud de Patente nº US 2004/0106581.

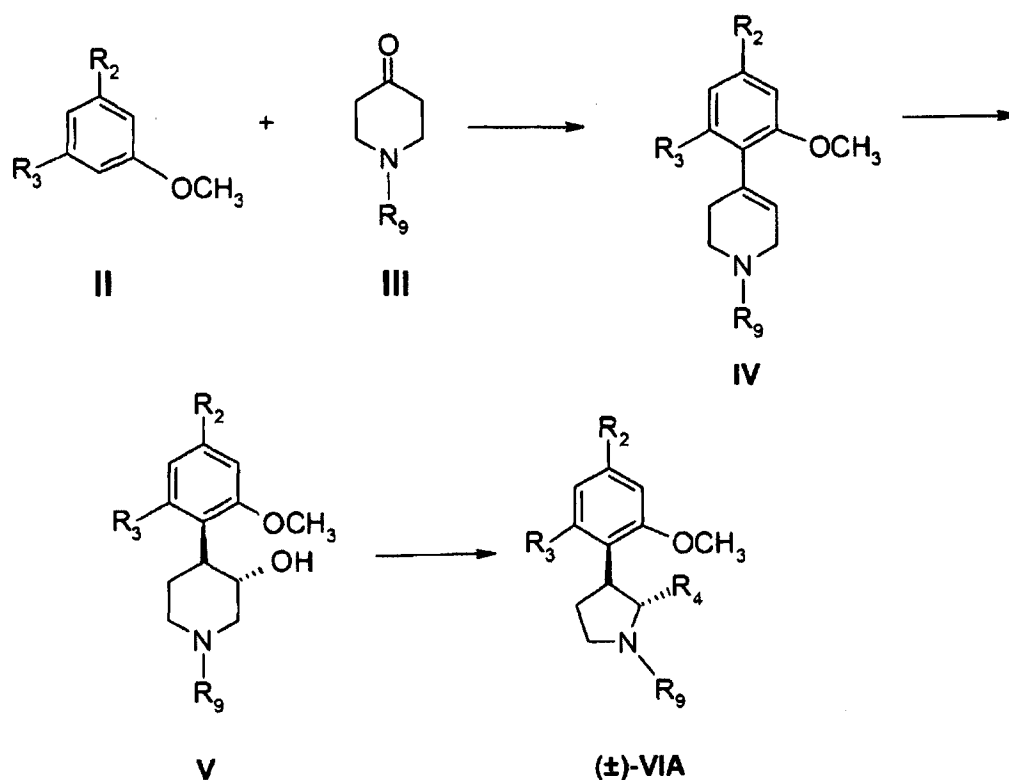
Por lo tanto, no sólo los enantiómeros individuales obtenidos por el proceso de acuerdo con la presente invención tienen mayor pureza enantiomérica en comparación con los enantiómeros individuales obtenidos por el procedimiento de la Solicitud de Patente no.

US 2004/0106581, sino que el procedimiento de acuerdo con la presente invención es más simple y más rentable que el proceso anterior, ya que implica una reacción de una sola etapa para obtener la sal diastereomérica, es decir, la sal de dibenzoil tarttrato. El presente procedimiento implica la cristalización única. La utilización del auxiliar quiral

5 (-)-DBTA presenta la ventaja adicional de que es comparativamente más barato que (+)-DBTA, que se utiliza en el proceso descrito en la solicitud de patente publicada nº US 2004/0106581, reduciendo así el coste total de producción.

El compuesto racémico de la fórmula (VIA), un producto intermedio clave en la preparación del compuesto de la fórmula (I), se puede preparar tal como se describe en

10 el siguiente Esquema 1.



(En que R4 es CH₂OH)

ESQUEMA 1

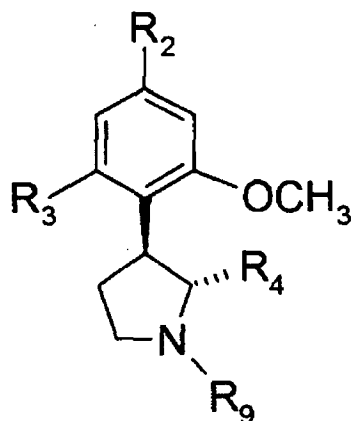
Los pasos de preparación hasta el compuesto de fórmula (V) a partir del compuesto de fórmula (II) se describen en US-A-4 900 727, que se incorpora al presente documento como referencia. En la conversión del compuesto de la fórmula (V) al de la fórmula (VIA) en el esquema anterior, la función hidroxilo en el anillo de piperidina puede
5 convertirse en un grupo saliente tal como tosilo, mesilo, triflato o haluro por tratamiento con un reactivo apropiado tal como p-toluenosulfonil cloruro, metanosulfonil cloruro, anhídrido triflico o pentacloruro de fósforo en presencia de nucleófilos de oxígeno tales como trietilamina, piridina, carbonato de potasio o carbonato de sodio, seguido por
10 contracción del anillo en presencia de nucleófilos de oxígeno tales como acetato de sodio o acetato de potasio en un disolvente alcohólico, tal como isopropanol, etanol o propanol. La contracción del anillo correspondiente a este paso se puede efectuar antes de la formación de flavona tal como se representa en el esquema anterior o puede hacerse después de la construcción de la flavona con las sustituciones deseadas.

El método de la presente invención incluye la utilización de un (-)-*trans* enantiómero
15 enantioméricamente puro de un compuesto de la fórmula (VIA) tal como se ha definido anteriormente, en que la pureza enantiomérica es tal como se define para la preparación de un compuesto enantioméricamente puro de la fórmula (I) tal como se define. Mediante el uso de un compuesto intermedio que tiene una alta pureza enantiomérica como compuesto de inicio en el proceso, el (+)-*trans* enantiómero resultante de
20 pirrolidinas sustituidas con flavona representado por la fórmula (I) producido por el proceso tiene una pureza enantiomérica correspondientemente alta.

De acuerdo con la presente invención, se proporciona un proceso para la preparación de un (+)-*trans* enantiómero enantioméricamente puro de un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, a partir del (-)-*trans* enantiómero

enantioméricamente puro resuelto del compuesto intermedio de la fórmula (VIA), cuyo proceso comprende:

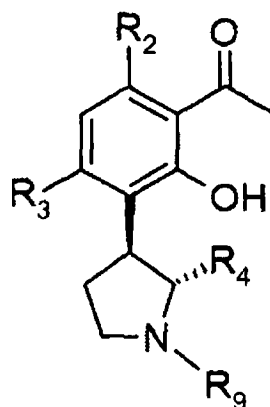
(a) el tratamiento del (-)-*trans* enantiómero de un compuesto representado por la fórmula (VIA):



VIA

5

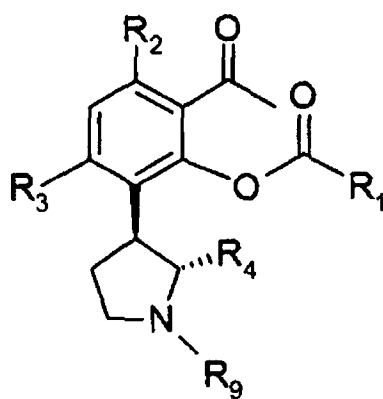
en que R₂ y R₃ son metoxi, R₉ es metil y R₄ es hidroximetil; con anhídrido acético en presencia de un catalizador de ácido de Lewis seleccionado entre: trifluorato de boro, eterato de dietil, clorato de zinc, clorato de aluminio y clorato de titanio; para obtener un compuesto acetilado resuelto de la fórmula (VIIA),



VIIA

en que R_2 , R_3 y R_9 son tal como se define más arriba y R_4 es $\text{CH}_2\text{OC}(\text{O})\text{CH}_3$;

- (b) hacer reaccionar el compuesto acetilado resuelto de fórmula (VIIA) con un ácido de fórmula $R_1\text{COOH}$ o un cloruro de ácido de fórmula $R_1\text{COCl}$ o un anhídrido de ácido de fórmula $(R_1\text{CO})_2\text{O}$ o un éster de fórmula $R_1\text{COOCH}_3$, donde R_1 es como se define en la reivindicación 1, en presencia de una base y un disolvente para obtener un compuesto de fórmula (VIII A);

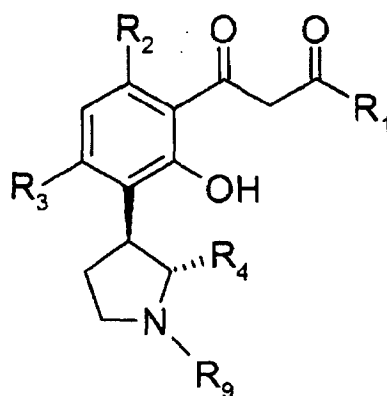


VIII A

en que R_1 , R_2 , R_3 y R_9 son tal como se define anteriormente en este documento y R_4 es $\text{CH}_2\text{OC}(\text{O})\text{CH}_3$;

(c) tratar el compuesto resuelto de fórmula (VIII A) con una base seleccionada entre: hexametildisilazida de litio, hexametildisilazida de sodio, hexametildisilazida de potasio, hidruro de sodio e hidruro de potasio; para obtener el compuesto resuelto de β -dicetona correspondiente de la fórmula (IX A);

5

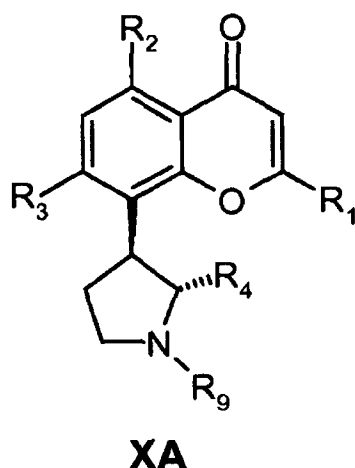


IXA

en que R_1 , R_2 , R_3 y R_9 son tal como se definen anteriormente en este documento y R_4 es $\text{CH}_2\text{OC}(\text{O})\text{CH}_3$;

(d) tratar el compuesto de β -dicetona resuelto de la fórmula (IX A) con un ácido para obtener el compuesto ciclado resuelto de la fórmula (XA),

10



en que R_1 , R_2 , R_3 y R_9 son tal como se definen anteriormente en este documento,
 R_4 es CH_2OH ;

(e) tratar el compuesto resuelto de fórmula (XA) con un agente desalquilante
 5 seleccionado entre: clorhidrato de piridina, tribromuro de boro, trifluoruro de boro
 eterato y tricloruro de aluminio para realizar la desalquilación a una temperatura
 que oscila desde 120 hasta 180 °C para obtener el compuesto enantioméricamente
 puro de fórmula (I); en que R_1 es fenil, que es sustituido con dos sustituyentes
 distintos: cloro y trifluorometil; R_2 y R_3 son hidroxil, R_4 es CH_2OH y R_9 es metil.

10

El catalizador de ácido de Lewis utilizado en el paso (a) anterior puede ser seleccionado
 a partir de: BF_3 , Et_2O , cloruro de zinc, cloruro de aluminio y cloruro de titanio.

La base utilizada en la fase (b) del proceso se puede seleccionar entre trietilamina,
 piridina y una combinación de DCC-DMAP.

15 Resultará evidente para los expertos en la técnica que la reordenación del compuesto de
 fórmula (VIIIA) al compuesto de β -dicetona correspondiente de la fórmula (IXA) se

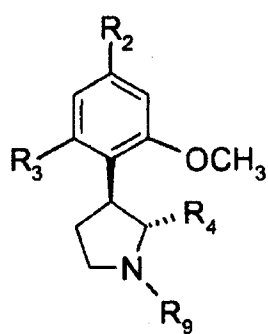
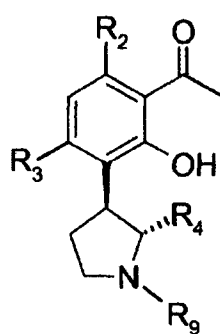
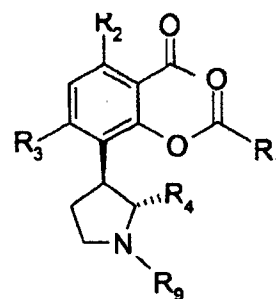
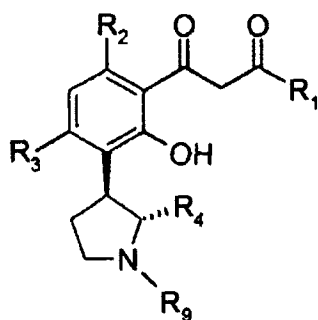
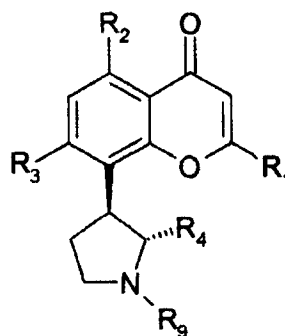
conoce como un reordenamiento de *Baker-Venkataraman* (J. Chem. Soc., 1381 (1933) and Curr. Sci., 4, 214 (1933)).

La base utilizada en la fase (c) del proceso se puede seleccionar entre: hexametildisilazida de litio, hexametildisilazida de sodio, hexametildisilazida de
5 potasio, hidruro de sodio e hidruro de potasio. La base más preferida es la hexametildisilazida de litio.

El agente de desalquilación utilizado en la fase (e) del proceso para la desalquilación del compuesto de la fórmula (IXA) se puede seleccionar entre: clorhidrato de piridina, tribromuro de boro, eterato de trifluoruro de boro y tricloruro de aluminio. El agente de
10 desalquilación más preferido es el clorhidrato de piridina.

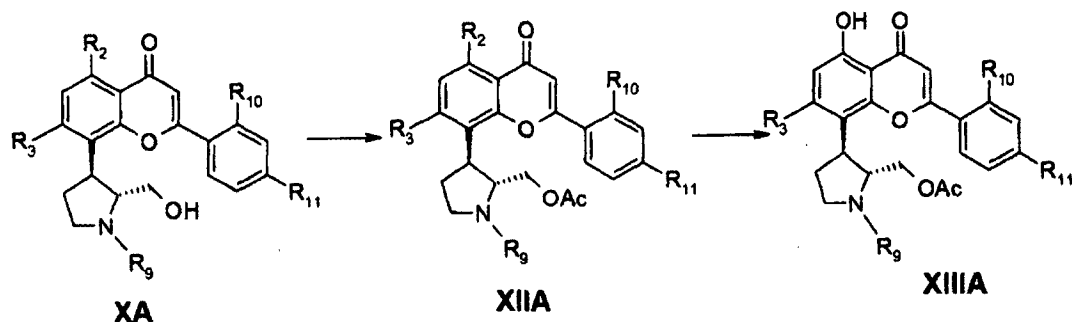
La presente invención también implica la utilización de todos los compuestos intermedios resueltos que son críticos para la síntesis del (+)-*trans*- enantiómero enantioméricamente puro de un compuesto de la fórmula general (I).

Más específicamente, los compuestos intermedios enantioméricamente puros que se
15 incluyen dentro del proceso de preparación de los compuestos enantioméricamente puros de la fórmula (I) de la presente invención son compuestos de las fórmulas (VIA), (VIII A), (IXA) y (XA).

**VIA****VIIA****VIIIA****IXA****XA**

En los compuestos de las fórmulas (VIA), (VIIA), (VIIIA), (IXA) y (XA) los sustituyentes R_1 , R_2 , R_3 , R_4 y R_9 son tal como se definen anteriormente en el presente documento.

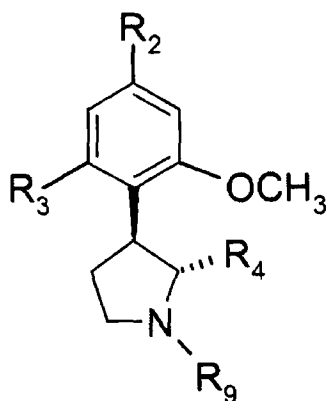
En una realización específica de la presente invención, la desmetilación selectiva del compuesto de fórmula (XA) [en que R_1 , R_2 , R_3 y R_9 son tal como se definen anteriormente en el presente documento y R_4 es CH_2OH] se lleva a cabo tal como se representa en el siguiente Esquema 2.



ESQUEMA 2

- Tal como se ilustra en el Esquema 2 anterior, el grupo hidroxilo en el compuesto de la fórmula (XA) está protegido con un grupo protector adecuado tal como un grupo acetilo mediante el tratamiento de dicho compuesto de la fórmula (XA) con un reactivo apropiado como cloruro de acetilo o anhídrido acético en presencia de una base seleccionada entre: hidruro de sodio, hidruro de potasio, piridina, trietilamina y dimetilaminopiridina (DMAP) para obtener el compuesto acetilado de la fórmula XIIA.
- El compuesto de la fórmula XIIA se trata a continuación con un agente de desmetilación tal como eterato de trifluoruro de boro para obtener el compuesto de la fórmula XIII A.

Otro aspecto de la presente invención es proporcionar un proceso de acuerdo con la invención en que el compuesto de la fórmula (VIA);

**VIA**

donde R_2 y R_3 son metoxi, R_9 es metil y R_4 es hidroximetil; se prepara haciendo reaccionar un racemato del compuesto de la fórmula (VIA) con un auxiliar quiral; (-)-dibenzoil ácido tartárico ((-)-DBTA) en presencia de metanol para obtener una mezcla

5 de sales diastereoméricas de los (+)- y (-)-*trans* enantiómeros del compuesto de la fórmula (VIA), separando las sales diastereoméricas respectivas y tratando la sal diastereomérica del (-)-*trans* enantiómero con carbonato de sodio.

De acuerdo con la presente invención, los compuestos de la fórmula general (I) son inhibidores de CDK, particularmente complejos de CDK/ciclina y encuentran su

10 utilización en terapias antiproliferativas para enfermedades caracterizadas por crecimiento celular excesivo tales como cánceres, anomalías cardiovasculares, trastornos nefrológicos, psoriasis, parasitología, la enfermedad de Alzheimer, inflamación y artritis, trastornos inmunológicos que implican una proliferación no deseada de leucocitos, restenosis y otros trastornos proliferativos del músculo liso,

15 infecciones virales, e infecciones micóticas.

Por lo tanto, la presente invención se refiere a los compuestos enantioméricamente puros de la fórmula (I), y/o a sus sales farmacéuticamente aceptables para su utilización

como productos farmacéuticos (o medicamentos), a la utilización de los compuestos enantioméricamente puros de la fórmula (I) y/o sus sales fisiológicamente tolerables para la producción de productos farmacéuticos para la inhibición de la proliferación celular o para la terapia o profilaxis de las enfermedades mencionadas anteriormente, por ejemplo para la producción de productos farmacéuticos para la terapia y profilaxis de cáncer, inflamación y artritis, psoriasis, enfermedades óseas, infecciones micóticas o virales, trastornos cardiovasculares, enfermedad de Alzheimer, etc. La presente invención se refiere además a composiciones farmacéuticas que contienen una cantidad eficaz de al menos un compuesto enantioméricamente puro de la fórmula (I) y/o sus sales fisiológicamente tolerables además de un soporte farmacéuticamente aceptable habitual, opcionalmente, con otros agentes anti-proliferativos activos, y a un procedimiento para la producción de un producto farmacéutico, que comprende poner al menos un compuesto enantioméricamente puro de fórmula (I) en una forma de administración adecuada usando un soporte farmacéuticamente adecuado y fisiológicamente tolerable y, en caso apropiado, otros compuestos activos adecuados y/o aditivos. Estas composiciones se pueden preparar mediante la aplicación de técnicas conocidas en la técnica, tales como las que se enseñan en "Remington's Pharmaceutical Sciences", publicado por Mack Publishing Co. o "Pharmaceutical Dosage Form and Drug Delivery Systems" (Sexta Edición), publicado por Williams & Wilkins, (1995), cada uno de los cuales se incorpora al presente documento como referencia.

La presente invención también se refiere a un método para la preparación de un medicamento para el tratamiento o la prevención de trastornos asociados con la proliferación celular excesiva, caracterizado porque al menos un compuesto enantioméricamente puro de la fórmula general (I) se utiliza como la sustancia farmacéuticamente activa.

Las composiciones farmacéuticas contienen normalmente aproximadamente entre un 1 y un 99%, preferiblemente entre aproximadamente un 5 y un 70%, más preferiblemente aproximadamente entre un 10 y un 30% en peso de los compuestos enantioméricamente puros de la fórmula (I) y/o sus sales fisiológicamente tolerables. La cantidad del
5 ingrediente activo del compuesto enantioméricamente puro de la fórmula (I) y/o sus sales fisiológicamente tolerables y/o sus profármacos en las composiciones farmacéuticas normalmente es de aproximadamente entre 5 y 500 mg. La dosis de los compuestos enantioméricamente puros de esta invención que se va a administrar puede cubrir un amplio espectro. La dosis a administrar diariamente se selecciona para
10 adaptarse al efecto deseado. Aproximadamente se administran preferiblemente entre 20 y 1.000 mg al día por paciente. En caso necesario, también se pueden administrar dosis diarias más altas o más bajas. Los niveles de dosificación reales de los ingredientes activos en las composiciones farmacéuticas de esta invención pueden variar para obtener una cantidad del ingrediente activo que sea eficaz para lograr la respuesta
15 terapéutica deseada para un paciente, una composición, y un modo de administración determinados sin resultar tóxicos para el paciente.

El nivel de dosificación seleccionado dependerá de una variedad de factores, incluyendo la actividad del compuesto específico de la presente invención empleado, o el éster, la sal o la amida del mismo, la vía de administración, el tiempo de administración, la tasa
20 de excreción del compuesto específico que está siendo empleado, la duración del tratamiento, otros fármacos, compuestos y/o materiales utilizados en combinación con los compuestos específicos empleados, la edad, sexo, peso, condición, salud general e historial médico previo del paciente que está siendo tratado, y factores similares bien conocidos en las artes médicas.

Los productos farmacéuticos se pueden administrar por vía oral, incluyendo por vía sublingual, por ejemplo en forma de píldoras, comprimidos, comprimidos recubiertos, cápsulas, gránulos, polvos, jarabes o elixires. Sin embargo, la administración también se puede llevar a cabo: por vía rectal o vaginal, por ejemplo en forma de supositorios;

5 parenteralmente, por ejemplo intravenosa, intramuscular o subcutánea, incluyendo mediante el uso de técnicas de infusión, en forma de soluciones o suspensiones estériles inyectables; por vía tópica, por ejemplo en forma de cremas, pomadas, lociones, espumas, geles, emulsiones, soluciones, tinturas, magmas o parches transdérmicos; o por otras vías, por ejemplo, oftálmicamente, ópticamente, por vía nasal, o en otras

10 formas, por ejemplo, aerosoles, inhalantes o pulverizadores nasales.

Las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la invención se preparan de una manera conocida per se y que resulta familiar para un experto en la técnica. Pueden utilizarse vehículos inertes farmacéuticamente aceptables inorgánicos y/u orgánicos y/o aditivos además de el/los compuesto(s) de la fórmula (I) y/o sus sales fisiológicamente

15 tolerables. Para la producción de píldoras, comprimidos, comprimidos recubiertos y cápsulas de gelatina dura es posible utilizar, por ejemplo, lactosa, almidón de maíz o derivados de los mismos, goma árabe, magnesita o glucosa, etc. Los soportes para cápsulas de gelatina blanda y supositorios son, por ejemplo, grasas, cera, aceites naturales o endurecidos, etc. Los soportes adecuados para la producción de soluciones,

20 por ejemplo soluciones de inyección, o de emulsiones o jarabes son, por ejemplo, agua, solución fisiológica de cloruro sódico o alcoholes, por ejemplo, etanol, propanol o glicerol, disoluciones de azúcar, tales como soluciones de glucosa o soluciones de manitol, o una mezcla de los diversos disolventes que se han mencionado. Los aditivos que se pueden utilizar son, por ejemplo, rellenos, antioxidantes, dispersantes,

emulsionantes, antiespumantes, correctores del sabor, conservantes, solubilizantes o colorantes.

Los soportes y aditivos farmacéuticamente aceptables utilizados comúnmente que se pueden utilizar según resulte apropiado para formular la composición para la vía
5 pretendida de administración son bien conocidos en la técnica e incluyen los soportes y aditivos que se describen en la solicitud publicada de patente nº US 2004/0106581 del solicitante.

Las composiciones farmacéuticas pueden contener también dos o más compuestos enantioméricamente puros de la fórmula (I) y/o sus sales fisiológicamente tolerables.

10 Por otra parte, además de al menos un compuesto enantioméricamente puro de la fórmula (I) y/o sus sales fisiológicamente tolerables, las composiciones farmacéuticas pueden también contener uno o más de otros ingredientes terapéuticamente o profilácticamente activos. Por lo tanto, los compuestos de la presente invención se pueden utilizar como fármacos en el tratamiento de trastornos proliferativos, ya sea
15 solos o como parte de terapias combinadas. Por ejemplo, los compuestos enantioméricamente puros de la presente invención se pueden utilizar en combinación con agentes anti-cáncer, citostáticos, y citotóxicos conocidos. Si se formula como una dosis fija, tales productos de combinación emplean los compuestos de la presente invención dentro del intervalo de dosificación descrito anteriormente y el otro agente
20 farmacéuticamente activo dentro de su intervalo de dosificación aprobado. Por ejemplo, se ha descubierto que la olomucina inhibidora de CDK actúa sinérgicamente con agentes citotóxicos conocidos en la inducción de la apoptosis (J. Cell Sci., 1995, 108, 2897). Los compuestos enantioméricamente puros de la fórmula general (I) pueden

utilizarse secuencialmente con fármacos conocidos tales como agentes anti-cáncer o citotóxicos cuando una formulación de combinación es inapropiada.

Los agentes anti-proliferativos opcionales que se pueden añadir a la composición incluyen, pero no se limitan a, los compuestos listados en los regímenes de
 5 medicamentos de quimioterapia del cáncer en la 13a Edición del Merck Index, (1996) (NB El año o la edición necesita corrección), que se incorpora aquí como referencia, tales como asparaginasa, bleomicina, carboplatino, carmustina, clorambucilo, cisplatino, colaspase, ciclofosfamida, citarabina, dacarbazina, dactinomicina, daunorubicina, doxorubicina, epirubicina, etopósido, fluorouracilo, hexametilmelamina, hidroxiurea,
 10 ifosfamida, leucovorina, lomustina, mecloretamina, 6-mercaptopurina, mesna, metotrexato, mitomicina C, mitoxantrona, prednisolona, prednisona, procarbazina, estreptozocina, tamoxifeno, tioguanina, vinblastina, vincristina, vindesina.

Otros agentes anti-proliferativos adecuados para su utilización con la composición de la invención incluyen, pero no se limitan a, aquellos compuestos reconocidos para ser
 15 utilizados en el tratamiento de enfermedades neoplásicas en Goodman y Gilman: The Pharmacological Basis of Therapeutics (Novena Edición), editor Molinoff et al., Publ. por McGraw-Hill, páginas 1225-1287, (1996), que se incorpora aquí como referencia, tales como aminoglutetimida, L-asparaginasa, azatioprina, 5 - azacitidina cladribina, busulfán, dietilestilbestrol, 2', 2'-difluorodesoxicitidina, docetaxel,
 20 eritrohidroxinoniladenina, etinil estradiol, 5-fluorodesoxiuridina, 5-fluorodesoxiuridina monofosfato, fosfato de fludarabina, fluoximesterona, flutamida, caproato de hidroxiprogesterona, idarrubicina, interferón, acetato de medroxiprogesterona, acetato de megestrol, melfalán, mitotano, paclitaxel, pentostatina, N-fosfonoacetil-L-aspartato

(PALA), plicamicina, semustina, tenipósido, propionato de testosterona, tiotepa, trimetilmelamina, uridina, vinorelbina.

Los agentes inhibidores de la quinasa dependiente de ciclina (CDK) que se pueden añadir a la composición incluyen, pero no se limitan a alsterpaulona, butirolactona I, inhibidor de CDK2, Péptido Inhibidor de CDK2/Ciclina I, Péptido Inhibidor de CDK2/Ciclina II, 2-(2-hidroxi-etilamino)-6-(3-cloroanilino)-9-isopropilpurina, indirubina-3'-monoxima, kenpaulona, olomucina, iso-olomucina, N⁹-isopropil-olomucina, purvalanol A, roscovitina, roscovitina (S)-isómero y WHI-P180 [4-(3'-hidroxi-fenil)amino-6,7-dimetoxiquinazolina] (de Calbiochem Signal Transduction Catalog & Technical Resource 2001).

Se entiende que las modificaciones que no afectan sustancialmente a la actividad de las diversas realizaciones de esta invención se incluyen dentro de la invención descrita en este documento. En consecuencia, los siguientes ejemplos están destinados a ilustrar pero no a limitar la presente invención.

15

Ejemplos

En el presente documento se utilizan las abreviaturas siguientes:

BF₃: Trifluoruro de boro eterato de dietilo

Conc.: Concentrado

20

THF: Tetrahidrofurano

EtOAc: Acetato de etilo

MeOH: Metanol

IPA: Isopropanol

DBTA: Dibenzoil ácido tartárico

DMF: N, N-Dimetil formamida

DCC: N, N-Diciclohexilcarbodiimida

5 DMAP: (N,N-dimetilamino)piridina

HCl: Ácido clorhídrico

NaBH₄: Borohidruro de sodio

NaOH: Hidróxido de sodio

Na₂CO₃: carbonato de sodio

10

Ejemplo 1: (Preparación de Producto Intermedio)

1-Metil-4-(2,4,6-trimetoxifenil)-1,2,3,6-tetrahidropiridina

Se añadió lentamente 1-metil-4-piperidona (340 g, 3.0 moles) a una solución de 1,3,5-
 15 trimetoxibenceno (500 g, 2.97 mol) en ácido acético glacial (600 mL), manteniendo la
 temperatura de la mezcla de reacción por debajo de 40 °C. Se añadió HCl conc. (450
 mL) durante 20 min. La temperatura se elevó a 85-90 °C y la mezcla de reacción se
 agitó durante 3.5 h. Se dejó enfriar hasta 40 °C, se vertió sobre hielo picado (4 kg) y se
 agitó durante 20 min. El precipitado de 1,3,5-trimetoxibenceno sin reaccionar se separó
 20 por filtración. El filtrado se basificó, por debajo de 10 °C, a pH 11-12 con una solución
 acuosa de NaOH al 50%. El sólido blanquecino obtenido se filtró, se lavó con agua y se

secó para obtener el compuesto, 1-metil-4-(2,4,6-trimetoxi-fenil)-1,2,3,6-tetrahidropiridina.

Rendimiento: 580 g (74%);

pf: 112 a 114 °C;

5 IR (KBr): 3045, 2900, 2837, 1600, 1585 cm^{-1} ;

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz): δ 6.15 (s, 2H), 5.55 (s, 1 H), 3.85 (s, 3H), 3.75 (s, 6H), 3.10 (d, 2H), 2.55 (t, 2H), 2.40 (s, 3H), 2.35 (m, 2H);

MS (EI): m/z 263 (M^+).

10 Ejemplo 2: (Preparación de Producto Intermedio)

($\pm$)-*trans*-1-metil-4-(2,4,6-trimetoxifenil)-piperidin-3-ol

Se añadió trifluoruro de boro eterato de dietilo (300 mL, 2.36 mol) lentamente con agitación, bajo una atmósfera de nitrógeno, a 0 °C, a una solución de compuesto del

- 15 Ejemplo (1) (300 g, 1.14 mol) y NaBH_4 (75 g, 1.97 mol) en THF seco (2.25 L). La temperatura de la mezcla de reacción se elevó lentamente hasta 55 °C y se agitó durante 1.5 h. Se enfrió a 30 °C. Se añadió agua helada (100 mL) lentamente seguido de acidificación con HCl conc. (375 mL). La mezcla de reacción se agitó durante 1 h. a 50-55 °C. Se enfrió a 30 °C y se basificó usando solución acuosa de NaOH al 50% a pH 11-
- 20 12. Se añadió peróxido de hidrógeno (30%, 225 mL) durante 0.5 h. La mezcla de reacción se agitó a 55-60 °C durante 1.5 h. Se enfrió a 30 °C y se añadió agua suficiente para disolver las sales precipitadas. La capa orgánica se separó y la porción acuosa se extrajo con acetato de etilo (2 x 1 L). Los extractos orgánicos se secaron (Na_2SO_4

anhidro) y se concentraron. El aceite marrón viscoso bruto obtenido se trató con 4N HCl (1.2 L) y se extrajo con acetato de etilo (2 x 500 mL). La parte acuosa se enfrió, se basificó con solución acuosa de hidróxido de sodio al 50% y se extrajo con acetato de etilo (2 x 1 L). El extracto orgánico se secó (Na_2SO_4 anhidro) y se concentró para dar el
 5 compuesto, ($\pm$)-*trans*-1-metil-4-(2,4,6-trimetoxi-fenil)-piperidin-3-ol

Rendimiento: 210 g (65.6%);

pf: 96 - 97 °C;

IR (KBr): 3582, 3374, 3017 cm^{-1} ;

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz): δ 6.15 (s, 2H), 4.40 (m, 1 H), 3.79 (s, 3H), 3.74 (s, 6H),
 10 3.20 (dd, 1H), 3.00 (m, 1 H), 2.80 (m, 1 H), 2.40 (m, 1 H), 2.37 (s, 3H), 2.00 (m, 1 H),
 1.90 (t, 1H), 1.52 (m, 1 H);

MS (CI): m/z 282 (M +1).

Ejemplo 3 (Preparación de Producto Intermedio)

15 ($\pm$)-*trans*-Ácido acético-1-metil-3- (2,4,6-trimetoxifenil)-pirrolidin-2-il metil éster

Se añadió cloruro de metanosulfonilo (30.27 mL, 44.8 g, 0.4 moles) gota a gota a una solución enfriada y agitada del compuesto del ejemplo (2) (100 g, 0.35 mol) y trietilamina (71.88 g, 0.7 mol) en THF seco (1.0 L). La mezcla de reacción se agitó
 20 adicionalmente durante 45 min. a 0 °C. El precipitado de trietilamina HCl se filtró y se lavó con THF seco (2 x 100 mL). El filtrado se añadió gota a gota a una suspensión a reflujo de acetato de sodio (115 g, 1.40 mol) en 2-propanol (1.0 L). La mezcla de la reacción se sometió a reflujo durante otros 15 min., se diluyó con EtOAc (1.0 L) y se

filtraron las sales. La mezcla de sales se lavó con EtOAc (2 x 100 mL). El filtrado combinado se concentró para proporcionar una goma. Se añadió agua (50 mL) a la goma, con agitación, para obtener un sólido que se filtró y se secó para producir el compuesto, (±)-*trans* Ácido acético-1-metil-3-(2,4,6-trimetoxifenil)-pirrolidin-2-il metil
 5 éster.

Rendimiento: 90 g (81%);

pf: 74-77 °C;

¹ H NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 6.13 (s, 2H), 4.00 (m, 2H), 3.81 (m, 1H), 3.79 (s, 3H),
 3.76 (s, 6H), 3.20 (m, 1 H), 2.75 (m, 1 H), 2.69 (m, 1H), 2.47 (s, 3H), 2.00 (m, 2H),
 10 1.99 (s, 3H).

Ejemplo 4 (Preparación de Producto Intermedio)

(±)- *trans*-[1-metil-3-(2,4,6-trimetoxifenil)-pirrolidin-2-il]-metanol

15 Se añadió una solución acuosa de NaOH al 10% (596 mL) a una solución del compuesto del ejemplo (3) (241 g, 0.75 mol) en metanol (596 mL). La mezcla de reacción se agitó a 50 °C durante 45 min. Se concentró hasta una goma y después se vertió en agua enfriada con hielo (2 L). El sólido resultante se filtró para obtener el compuesto, (±)- *trans*-[1-metil-3-(2,4,6-trimetoxifenil)-pirrolidin-2-il]-metanol.

20 Rendimiento: 198 g (94%);

pf: 82-85 °C;

IR (KBr): 3421, 3009, 1607 cm⁻¹;

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz): δ 6.15 (s, 2H), 3.92 (m, 1 H), 3.80 (s, 9H), 3.60 (dd, 1 H), 3.45 (d, 1 H), 3.20 (m, 1 H), 2.78 (m, 1 H), 2.50 (m, 1 H), 2.42 (s, 3H), 2.00 (m, 1 H), 1.92 (m, 1 H);
MS (ES +): m/z 282 (M +1).

5

Ejemplo 5 (Preparación de Producto Intermedio):

(-)-*trans*-[1-metil-3-(2,4,6-trimetoxi-fenil)-pirrolidin-2-il]-metanol

Se añadió (-)-DBTA (321.7 g, 897.7 mmoles) al compuesto del ejemplo (4) (250 g, 889.6 mmol) seguido de la adición de metanol (1715 mL). La mezcla se calentó a reflujo durante 10 min., se agitó lentamente a temperatura ambiente durante 3 h., la sal cristalizada se filtró y se secó.

Rendimiento: 185 g (30%);

pf: 102-105 °C;

15 $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -82.66^\circ$ (c = 0.7, metanol).

La sal se agitó con solución acuosa al 10% de Na_2CO_3 (765 mL) y EtOAc (200 mL x 3) para obtener la base libre en la capa de EtOAc. La capa de EtOAc se concentró para obtener el compuesto, (-)-*trans*-[1-metil-3-(2,4,6-trimetoxi-fenil)-pirrolidin-2-il]-metanol.

20 Rendimiento: 80 g (98.3%);

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -20.0^\circ$ (c = 0.7, metanol).;

¹ H NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 6.13 (s, 2H), 3.90 (m, 1 H), 3.79 (s, 9H), 3.57 (dd, 1H), 3.38 (d, 1 H), 3.13 (m, 1 H), 2.69 (m, 1 H), 2.47 (m, 1 H), 2.34 (s, 3H), 2.00

(M, 1 H), 1.93 (m, 1 H).

Este compuesto se sometió a HPLC quiral. Se realizó la HPLC quiral utilizando una
 5 columna Chiralcel OD-H (250 x 4.6 mm) y el sistema de disolvente hexano:etanol
 (92:08) con TFA (0.4%). Se registraron unos resultados de 264 nm con un índice de
 flujo de disolvente de 1 mL / min. Tal como se representa en la figura 1, la HPLC quiral
 mostró un 100% de e.e. del compuesto, (-)-*trans*-[1-metil-3-(2,4,6-trimetoxi-fenil)-
 pirrolidin-2-il] - metanol .

10

Ejemplo 6:

(-)-*trans*- ácido acético-3-(3-acetil-2-hidroxi-4 ,6-dimetoxifenil) -1-metil-pirrolidin-2-il
 metil éster

15 Se añadió BF₃-eterato (25.2 g, 178 mmol) gota a gota, con agitación, a 0 °C, bajo
 atmósfera de N₂ a una solución del compuesto del Ejemplo (5) (10 g, 35.58 mmol) en
 anhídrido acético (19.48 mL, 176 mmoles). La mezcla de reacción se agitó a
 temperatura ambiente durante 2 h. Se vertió sobre hielo picado (1 kg), se basificó
 utilizando una solución acuosa de Na₂CO₃ saturado y se extrajo usando EtOAc (3 x 200
 20 mL). El extracto orgánico se lavó con salmuera, se secó (Na₂SO₄ anhidro) y se
 concentró para obtener el compuesto, (-)-*trans*- ácido acético-3-(3-acetil-2-hidroxi-4,6-
 dimetoxifenil)-1-metil-pirrolidin-2-il metil éster.

Rendimiento: 10 g (83%);

¹ H NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 14.20 (s, 1 H), 5.96 (s, 1 H), 4.10 (d, 2H), 3.90 (s, 3H), 3.89 (s, 3H), 3.85 (m, 1 H), 3.26 (m, 1 H), 2.82 (m, 1 H), 2.74 (m, 1 H), 2.66 (s, 3H), 2.52 (s, 3H), 2.21 (m, 2H), 2.10 (s, 3H).

5 Ejemplo 7 (Preparación de Producto Intermedio):

(-)-*trans*-1-[2-hidroxi-3-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-4,6-dimetoxifenil]-etanona

A una solución del compuesto del ejemplo (6) (10 g, 28.4 mmol) en metanol (25 mL) se
 10 añadió con agitación, a temperatura ambiente, una solución acuosa de NaOH al 10% (25 mL). La temperatura de la mezcla de reacción se elevó a 50 °C durante 45 min. Se enfrió a temperatura ambiente, se acidificó usando HCl conc. y se concentró para eliminar el metanol. Se basificó usando una solución acuosa de Na₂CO₃ saturada. El compuesto,
 15 (-)-*trans*-1-[2-hidroxi-3-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-4,6-dimetoxifenil]-etanona se filtró, se lavó con agua y se secó.

Rendimiento: 7.14 g (82%);

IR (KBr): 3400, 3121, 3001, 1629, 1590 cm⁻¹;

¹ H NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 5.96 (s, 1 H), 3.93 (m, 1 H), 3.90 (s 3H), 3.88 (s, 3H), 3.59 (dd, 1H), 3.37 (d, 1 H), 3.13 (m, 1 H), 2.75 (m, 1 H), 2.61 (s, 3H), 2.59 (m, 1 H),
 20 2.37 (s, 3H), 2.00 (m, 2H);

MS (ES +): m/z 310 (M +1).

Ejemplo 8 (Ejemplo Comparativo):

(+)-*trans*-2-(2-clorofenil)-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona

- 5 Se añadió hidruro de sodio (50%, 0.54 g, 11.25 mmol) en porciones a una solución del compuesto del ejemplo (7) (0.7 g., 2.2 mmol) en DMF seco (15 mL) a 0 °C, bajo atmósfera de nitrógeno y con agitación. Al cabo de 10 min, se añadió metil 2 -clorobenzoato (1.15 g, 6.75mmol). La mezcla de reacción se agitó a 25 °C durante 2 h. Se añadió metanol cuidadosamente por debajo de 20 °C. La mezcla de reacción se vertió
- 10 sobre hielo picado (300 g), se acidificó con HCl 1:1 (pH 2) y se extrajo utilizando EtOAc (2 x 100 mL). La capa acuosa se basificó usando Na₂CO₃ saturado (pH 10) y se extrajo con CHCl₃ (3 x 200 mL). La capa orgánica se secó (Na₂SO₄ anhidro) y se concentró. Al residuo, se le añadió HCl conc. (25 mL) y se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La mezcla de reacción se vertió sobre hielo picado (300 g) y se basificó
- 15 utilizando una solución acuosa de Na₂CO₃ saturada. La mezcla se extrajo con CHCl₃ (3 x 200 mL). El extracto orgánico se lavó con agua, se secó (Na₂SO₄ anhidro) y se concentró para obtener el compuesto, (+)-*trans*-2-(2-clorofenil)-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona

Rendimiento: 0.67 g (64%);

20 pf: 91-93 °C

$[\alpha]_D^{25} = + 5.8^\circ$ (c = 0.7, metanol);

IR (KBr): 3431, 1648, 1598, 1571 cm⁻¹;

¹ H NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 7.70 (dd, 1H), 7.52 (m, 1 H), 7.45 (m, 2H), 6.50 (s, 1 H), 6.44 (s, 1 H), 4.17 (m, 1 H), 4.00 (s, 3H), 3.97 (s, 3H), 3.64 (dd, 1H), 3.40 (d, 1H), 3.15 (m, 1 H), 2.74 (d, 1 H), 2.52 (m, 1 H), 2.32 (s, 3H), 2.00 (m, 2H);

MS (ES +): m/z 430 (M +1).

5

Ejemplo 9 (Ejemplo Comparativo):

(+)-*trans*-2-(2-clorofenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-cromen-4-ona

- 10 Se añadió clorhidrato de piridina fundido (4.1 g, 35.6 mmol) al compuesto del ejemplo (8) (0.4 g, 0.9 mmol) y se calentó a 180 °C durante 1.5 h. La mezcla de reacción se enfrió a 25 °C, se diluyó con MeOH (10 mL) y se basificó usando Na₂CO₃ a pH 10. La mezcla se filtró y la capa orgánica se concentró. El residuo se suspendió en agua (5 mL), se agitó durante 30 min, se filtró y se secó para obtener el compuesto, (+)-*trans*-2-(2-cloro-fenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-cromen-4-ona.
- 15

Rendimiento: 0.25 g (70%);

IR (KBr): 3422, 3135, 1664, 1623, 1559 cm⁻¹;

¹ H NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 7.56 (d, 1H), 7.36 (m, 3H), 6.36 (s, 1 H), 6.20 (s, 1 H), 4.02 (m, 1 H), 3.70 (m, 2H), 3.15 (m, 2H), 2.88 (m, 1 H), 2.58 (s, 3H), 2.35 (m, 1 H), 1.88 (m, 1 H);

20

MS (ES +): m/z 402 (M +1);

Análisis: C₂₁H₂₀ClNO₅ C, 62.24 (62.71); H, 5.07 (4.97); N, 3.60 (3.48); Cl, 9.01 (8.83).

Ejemplo 10 (Ejemplo Comparativo):

-trans-2-(2-clorofenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-cromen-4-ona clorhidrato

5 El compuesto del ejemplo (9) (0.2 g, 0.48 mmol) se suspendió en IPA (5 mL) y se añadió un 3.5% de HCl (25 mL). La suspensión se calentó para obtener una solución clara. La solución se enfrió y se filtró el sólido para obtener el compuesto, (+)-*trans-2-(2-clorofenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-cromen-4-ona-clorhidrato*.

10 Rendimiento: 0.21 g (97%);

pf: 188-192 °C ;

$[\alpha]_D^{25} = +21.3^\circ$ (c = 0.2, metanol);

$^1\text{H NMR}$ (CD₃OD, 300 MHz): δ 7.80 (d, 1H), 7.60 (m, 3H), 6.53 (s, 1 H), 6.37 (s, 1 H), 4.23 (m, 1 H), 3.89 (m, 2H), 3.63 (m, 1 H), 3.59 (dd, 1H), 3.38 (m, 1 H), 2.90

15 (S, 3H), 2.45 (m, 1 H), 2.35 (m, 1 H);

MS (ES +): m/z 402 (M +1) (base libre).

Este compuesto se sometió a HPLC quiral. La HPLC quiral se realizó usando una columna Chiralcel OD-H (250 x 4.6 mm) y sistema de disolvente hexano: etanol (92:08) con TFA (0.4%). Se registró un resultado de 264nm con un índice de flujo de disolvente de 1 mL / min. Tal como se representa en la Figura 3, la HPLC quiral mostró un 100% de e.e. del compuesto, (+)-*trans-2-(2-cloro-fenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-cromen-4-ona clorhidrato*

20

Ejemplo 11 (Ejemplo Comparativo):

(+)-*trans*-2-(2-cloro-5-fluorofenil)-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona

5

Se añadió hidruro sódico (50%, 0.776 g, 16 mmol) en porciones a una solución del compuesto del ejemplo (7) (1.0 g, 3.2 mmol) en DMF seca (25 mL) a 0 °C, bajo atmósfera de nitrógeno y con agitación. Después de 10 min, se añadió metil 2-cloro-5-fluorobenzoato (1.22 g, 6.4 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 25 °C durante 2 h.

- 10 Se añadió cuidadosamente metanol por debajo de 20 °C. La mezcla de reacción se vertió sobre hielo picado (300 g), se acidificó con 1:1 HCl (pH 2) y se extrajo usando EtOAc (2 x 100 mL). La capa acuosa se basificó usando Na₂CO₃ saturado (pH 10) y se extrajo con CHCl₃ (3 x 200 mL). La capa orgánica se secó (Na₂SO₄ anhidro) y se concentró. Al residuo, se le añadió HCl conc. (25 mL) y se agitó a temperatura ambiente durante 2 h.
- 15 La mezcla de reacción se vertió sobre hielo picado (300 g) y se hizo básica usando una solución acuosa de Na₂CO₃ saturada. La mezcla se extrajo con CHCl₃ (3 x 200 mL). El extracto orgánico se lavó con agua, se secó (Na₂SO₄ anhidro) y se concentró para obtener el compuesto, (+)-*trans*-2-(2-cloro-5-fluoro-fenil)-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona.

- 20 Rendimiento: 0.9 g (63%);

¹ H NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 7.57 (m, 1 H), 7.46 (m, 1 H), 7.16 (m, 1 H), 6.58 (s, 1 H), 6.45 (s 1 H), 4.15 (m, 1 H), 4.00 (s, 3H), 3.97 (s, 3H), 3.63 (dd, 1H), 3.32 (d, 1H), 3.13 (m, 1 H), 2.61 (m, 1 H), 2.53 (m, 1 H), 2.29 (s, 3H), 2.00 (m, 2H);

MS (Cl): m/z 448 (M +1).

Ejemplo 12 (Ejemplo Comparativo):

(+)-*trans*-2-(2-cloro-5-fluorofenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona

5

Se añadió clorhidrato de piridina fundido (8.0 g, 69.5 mmol) al compuesto del ejemplo (11) (0.8 g, 1.78 mmol) y se calentó a 180 °C durante 1.5 h. La mezcla de reacción se enfrió a 25 °C, se diluyó con MeOH (10 mL) y se basificó utilizando Na₂CO₃ a pH 10. La mezcla se filtró y la capa orgánica se concentró. El residuo se suspendió en agua (10 mL), se agitó durante 30 min, se filtró y se secó para obtener el compuesto, (+)-*trans*-2-(2-cloro-5-fluoro-fenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-cromen-4-ona-.

Rendimiento: 0.45 g (60%);

pf: 253-254 °C

15 IR (KBr): 3450, 1665 cm⁻¹;

¹ H NMR (DMSO d₆, 300 MHz): δ 12.70 (s, 1 H), 7.75 (m, 2H), 7.54 (m, 1 H), 6.55 (s, 1 H), 6.14 (s, 1 H), 3.80 (m, 1 H), 3.51 (m, 3H), 2.94 (m, 2H), 2.46 (s, 3H), 2.15 (m, 1 H), 1.86 (m, 1 H);

MS (ES +): m/z 420 (M +1);

20 Análisis: C₂₁H₁₉ClFNO₅ C, 60.2 (60.08); H, 4.53 (4.56); N, 3.86 (3.34); Cl, 8.17 (8.44).

Ejemplo 13 (Ejemplo Comparativo):

(+)-*trans*-2-(2-cloro-5-fluorofenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona clorhidrato

- 5 El compuesto del Ejemplo (12) (0.1 g, 0.244 mmol) se suspendió en IPA (5 mL) y se añadió 3.5% de HCl (25 mL). La suspensión se calentó para obtener una solución clara. La solución se enfrió y se filtró el sólido para obtener el compuesto, (+)-*trans*-2-(2-cloro-5-fluoro-fenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-cromen-4-ona clorhidrato.

- 10 Rendimiento: 0.108 g (100%);

$[\alpha]_D^{25} = 18.05^\circ$ (c = 0.7, metanol);

^1H NMR (CD_3OD , 300 MHz): δ 7.67 (m, 2H), 7.37 (m, 1 H), 6.60 (s, 1 H), 6.37 (s, 1 H), 4.25 (m, 1 H), 3.90 (m, 2H), 3.69 (m, 1 H), 3.60 (dd, 1H), 3.45 (m, 1 H), 2.98 (s, 3H), 2.52 (m, 1 H), 2.29 (m, 1 H); MS (ES +): m/z 420 (M - 36.5).

15

Ejemplo 14 (Ejemplo Comparativo):

(+)-*trans*-2-(2-bromo-5-fluorofenil)-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona

- 20 El compuesto del ejemplo (7) (6 g, 19.42 mmol) en DMF seca (60 mL) se hizo reaccionar con 2-bromo-5-fluorobenzoato (6.7 g, 28.75 mmol) en presencia de NaH (50%, 3.88 g, 80.8 mmol) a 0 °C, en atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se

agitó a 25 °C durante 2 h. Se añadió cuidadosamente metanol por debajo de 20 °C. La mezcla de reacción se vertió sobre hielo picado (300 g), se acidificó con 1:1 HCl (pH 2) y se extrajo usando EtOAc (2 x 100 mL). La capa acuosa se basificó usando Na₂CO₃ saturado (pH 10) y se extrajo con CHCl₃ (3 x 200 mL). La capa orgánica se secó (Na₂SO₄ anhidro) y se concentró. Al residuo, se le añadió HCl conc. (25 mL) y se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La mezcla de reacción se vertió sobre hielo picado (300 g) y se hizo básica usando una solución acuosa de Na₂CO₃ saturada. La mezcla se extrajo con CHCl₃ (3 x 200 mL). El extracto orgánico se lavó con agua, se secó (Na₂SO₄ anhidro) y se concentró para obtener el compuesto, (+)-*trans*-2-(2-bromo-5-fluoro-fenil)-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona.

Rendimiento: 3.94 g (41.2%);

¹ H NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 7.65 (m, 1 H), 7.45 (m, 1 H), 7.10 (m, 1 H), 6.47 (s, 1 H), 6.45 (s, 1 H), 4.15 (m, 1 H), 4.00 (s, 3H), 3.97 (s, 3H), 3.64 (dd, 1H), 3.35 (d, 1H), 3.10 (m, 1 H), 2.64 (m, 1 H), 2.45 (m, 1 H), 2.27 (s, 3H), 2.00 (m, 2H);

MS (ES +): m/z 493 (M +1).

Ejemplo 15 (Ejemplo Comparativo):

(+)-*trans*-2-(2-bromo-5-fluorofenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona

Se añadió clorhidrato de piridina fundido (39 g, 339 mmol) al compuesto del ejemplo (14) (3.9 g, 7.92 mmol) y se calentó a 180 °C durante 1.5 h. La mezcla de reacción se

enfrió a 25 °C, se diluyó con MeOH (10 mL) y se basificó usando Na₂CO₃ a pH 10. La mezcla se filtró y la capa orgánica se concentró. El residuo se suspendió en agua (40 mL), se agitó durante 30 min, se filtró y se secó para obtener el compuesto, (+)-*trans*-2-(2-bromo-5-fluoro-fenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-

5 cromen-4-ona-.

Rendimiento: 1.4 g (38.14%);

pf: 145-147 °C;

IR (KBr): 3650, 1640 cm⁻¹;

¹ H NMR (CDCl₃ + TFA, 300 MHz): δ 12.40 (s, 1 H), 7.55 (m, 1 H), 7.28 (m, 1 H),
10 7.00 (m, 1 H), 6.31 (s, 1 H), 6.28 (s, 1 H), 3.98 (m, 1 H), 3.68 (m, 2H), 3.50 (m, 2H),
3.15 (m, 1 H), 2.80 (s, 3H), 2.30 (m, 1 H), 2.08 (m, 1 H);

MS (ES +): m/z 465 (M +1).

Ejemplo 16 (Ejemplo Comparativo):

15 (+)-*trans*-2-(2-bromo-5-fluorofenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona clorhidrato

El compuesto del Ejemplo (15) (1.0 g) se convirtió en su sal de clorhidrato mediante la suspensión en IPA (5 mL) y un 3.5% de HCl (25 mL). La suspensión se calentó para
20 obtener una solución clara. La solución se enfrió y se filtró el sólido para obtener el compuesto, (+)-*trans*-2-(2-bromo-5-fluoro-fenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroxi-metil-1-metil-pirrolidin-3-il)-cromen-4-ona clorhidrato.

Rendimiento: 1.0 g (93%); MS (ES +): m/z 465 (M +1) (base libre).

Ejemplo 17 (Ejemplo Comparativo):

(+)-*trans*-2-(2-bromo-5-fluorofenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona metano sulfonato

El compuesto del Ejemplo (15) (1.97 g, 4.25 mmol) en metanol (5 mL) se trató con solución de ácido sulfónico de metano en metanol (0.408 g, 4.25 mmol). La solución clara obtenida se concentró para obtener el compuesto del título, (+)-*trans*-2-(2 - bromo-5-fluoro-fenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-cromen-4-ona metano sulfonato.

Rendimiento: 2.3 g (96.63%);

¹ H NMR (D₂O, 300 MHz): δ 7.58 (m, 1 H), 7.20 (m, 1 H), 7.11 (m, 1 H), 6.30 (s, 1 H), 6.02 (s, 1 H), 4.02 (m, 1 H), 3.85 (m, 2H), 3.45 (m, 2H), 3.35 (m, 1 H), 2.83 (s, 3H), 2.70 (s, 3H), 2.20 (m, 2H);

Análisis: C₂₂H₂₃BrNFO₈S.H₂O, C, 46.08 (45.68); H, 4.61 (4.35); N, 2.63 (2.42), Br, 14.73 (13.81); S, 4.99 (5.54);

MS (ES +): m/z 465 (M +1), base libre.

Ejemplo 18 (Ejemplo Comparativo):

(+)-*trans*-2-(2,4-dicloro-5-fluorofenil)-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona

El compuesto del ejemplo (7) (0.8 g, 2.58 mmol) en DMF seca (10 mL) se hizo reaccionar con cloruro de 2,4-dicloro-5-fluoro-benzoil cloruro (0.887 g, 3.9 mmol) en presencia de NaH (50%, 0.62 g, 12.9 mmol) a 0 °C, en atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se agitó a 25 °C durante 2 h. Se añadió cuidadosamente metanol por debajo de 20 °C. La mezcla de reacción se vertió sobre hielo picado (100 g), se acidificó con HCl 1:1 (pH 2) y se extrajo usando EtOAc (2 x 50 mL). La capa acuosa se basificó usando Na₂CO₃ saturado (pH 10) y se extrajo con CHCl₃ (3 x 100 mL). La capa orgánica se secó (Na₂SO₄ anhidro) y se concentró. Al residuo, se le añadió HCl conc. (10 mL) y se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La mezcla de reacción se vertió sobre hielo picado (100 g) y se basificó usando una solución acuosa de Na₂CO₃ saturada. La mezcla se extrajo con CHCl₃ (3 x 100 mL). El extracto orgánico se lavó con agua, se secó (Na₂SO₄ anhidro) y se concentró para obtener el compuesto del título, (+)-*trans*-2-(2,4-dicloro-5-fluoro-fenil)-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona.

15 Rendimiento: 0.54 g (43.4%);

¹ H NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 7.75 (d, 1H), 7.57 (d, 1 H), 6.60 (s, 1 H), 6.45 (s, 1 H), 4.20 (m, 1 H), 3.99 (s, 3H), 3.97 (s, 3H), 3.65 (dd, 1 H), 3.36 (d, 1 H), 3.20 (m, 1 H), 2.65 (m, 2H), 2.38 (s, 3H), 2.10 (m, 2H);

MS (ES +): m/z 482 (M +1).

Ejemplo 19 (Ejemplo Comparativo):

(+)-*trans*-2-(2,4-dicloro-5-fluorofenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona

- 5 Se añadió clorhidrato de piridina fundido (5.5 g, 47.6 mmol) al compuesto del ejemplo (18) (0.53 g, 1.1 mmol) y se calentó a 180 °C durante 1.5 h. La mezcla de reacción se enfrió a 25 °C, se diluyó con MeOH (10 mL) y se basificó usando Na₂CO₃ a pH 10. La mezcla se filtró y la capa orgánica se concentró. El residuo se suspendió en agua (5 mL), se agitó durante 30 min, se filtró y se secó para obtener el compuesto, (+)-*trans*-2-(2,4-dicloro-5-fluoro-fenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona.

Rendimiento: 0.29 g (58%);

IR (KBr): 3422, 1664, 1618, 1401 cm⁻¹;

- ¹ H NMR (CDCl₃ + DMSO d₆, 300 MHz): δ 7.50 (m, 2H), 6.42 (s, 1 H), 6.19 (s, 1 H), 4.04 (m, 1 H), 3.71 (m, 2H), 3.16 (m, 2H), 2.88 (m, 1 H), 2.58 (s, 3H), 2.36 (m, 1 H), 1.92 (m, 1H),

MS (ES +): m/z 454 (M +1).

Ejemplo 20 (Ejemplo Comparativo):

- 20 (+)-*trans*-2-(2,4-dicloro-5-fluorofenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona clorhidrato

El compuesto del Ejemplo (19) (0.89 g, 1.96 mmol) se convirtió en su sal de clorhidrato mediante suspensión en IPA (5 mL) y 3.5% de HCl (25 mL). La suspensión se calentó para obtener una solución clara. La solución se enfrió y se filtró el sólido para obtener el compuesto, (+)-*trans*-2-(2,4-dicloro-5-fluorofenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona clorhidrato.

Rendimiento: 0.91 g (92%);

¹ H NMR (CD₃OD, 300 MHz): δ 7.86 (m, 2H), 6.65 (s, 1 H), 6.38 (s, 1 H), 4.26 (q, 1 H), 3.87 (m, 2H), 3.71 (m, 1 H), 3.60 (dd, 1H), 3.56 (q, 1 H), 2.99 (s, 3H), 2.55

(M, 1 H), 2.28 (m, 1 H); IR (KBr): 3386, 1657 cm⁻¹.

MS (ES +): m/z 454 (M - 36.5);

Análisis: C₂₁H₁₉Cl₃FNO₅, C, 51.08 (51.35); H, 4.26 (3.87); N, 3.13 (2.85), Cl, 21.99 (21.70).

Ejemplo 21 (Ejemplo Comparativo):

(+)-*trans*-2-(2,4-dicloro-5-fluorofenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona metano sulfonato

Se añadió ácido metanosulfónico (0.012 g, 0.125 mmol) a la suspensión del compuesto del Ejemplo (19) (0.05 g, 0.11 mmol) en metanol (2 mL). Se agitó durante 5 min. a 25 °C para obtener una solución clara. El disolvente se eliminó a presión reducida para obtener residuo. El residuo se lavó dos veces con éter seco (2 x 5 mL) y se secó en alto

vacío (0.1 mm) para obtener el compuesto, (+)-*trans*-2-(2,4-dicloro-5-fluorofenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroxi metil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona metano sulfonato.

Rendimiento: 0.054 g (90%);

Análisis: C₂₂H₂₂Cl₂FNO₈S.2.5 H₂O C, 44.26 (44.34); H, 4.42 (4.53); N, 2.58 (2.35); Cl, 12.11 (11.92).

Ejemplo 22 (Ejemplo Comparativo):

(+)-*trans*-2-(2,4-dicloro-5-fluorofenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona citrato

10

Se añadió monohidrato de ácido cítrico (0.023 g, 0.11 mmol) a la suspensión del compuesto del Ejemplo (19) (0.05 g, 0.11 mmol) en metanol (2 mL). Se agitó durante 10 min. a 50-55 °C. La mezcla de reacción se concentró y el sólido se secó para obtener el compuesto, (+)-*trans*-2-(2,4-dicloro-5-fluoro-fenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-

15 1-metil-pirrolidin-3-il)-cromen-4-ona citrato

Rendimiento: 0.065 g (91.5%);

Análisis: C₂₇H₂₆Cl₂FNO₁₂ C, 49.75 (50.17); H, 4.25 (4.05); N, 2.60 (2.17); Cl, 10.69 (10.97).

20 Ejemplo 23 (Ejemplo Comparativo):

(+)-*trans*-2-(2,4-dicloro-5-fluorofenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona tartrato

Se añadió ácido tartárico (0.016 g, 0.11 mmol) a la suspensión del compuesto del Ejemplo (19) (0.05 g, 0.11 mmol) en metanol (2 mL). Se agitó durante 10 min. a 50-55 °C. La mezcla de reacción se concentró y el sólido se secó para obtener el compuesto, (+)-*trans*-2-(2,4-dicloro-5-fluorofenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metil-

5 pirrolidin-3-il)-cromen-4-ona tartrato.

Rendimiento: 0.06 g (90.19%);

Análisis: C₂₅H₂₄Cl₂FNO₁₁ · 2.0 H₂O C, 47.43 (46.84); H, 4.13 (4.37); N, 2.40 (2.18); Cl, 10.77 (11.08).

10 Ejemplo 24 (Ejemplo Comparativo):

(+)-*trans*-2-(2,4-dicloro-5-fluorofenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona maleato

Se añadió ácido maleico (0.0127 g, 0.11 mmol) a la suspensión del compuesto del Ejemplo (19) (0.05 g, 0.11 mmol) en metanol (2 mL). Se agitó durante 5 min. a 50 °C para obtener una solución clara. La mezcla de reacción se concentró y el sólido se secó para obtener el compuesto, (+)-*trans*-2-(2,4-dicloro-5-fluoro-fenil)-5,7-dihidroxi-8-(2 - hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona maleato.

Rendimiento: 0.059 g (90.19%);

20 Análisis: C₂₅H₂₂Cl₂FNO₉ · 1.5 H₂O C, 50.54 (50.23); H, 4.08 (4.18); N, 2.31 (2.34); Cl, 11.83 (11.88).

Ejemplo 25 (Ejemplo Comparativo):

(+)-*trans*-2-(2,4-dicloro-5-fluorofenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona acetato -

- 5 Se añadió ácido acético (0.0065 mL, 0.0068 g, 0.11 mmol) a la suspensión del compuesto del Ejemplo (19) (0.05 g, 0.11 mmol) en metanol (2 mL). Se agitó durante 5 min. a 50-55 °C para obtener una solución clara. La mezcla de reacción se concentró y el sólido se secó para obtener el compuesto del título.

Rendimiento: 0.05 g (88.33%);

- 10 Análisis: C₂₃H₂₂Cl₂FNO₉ C, 53.67 (53.71); H, 4.63 (4.31); N, 3.08 (2.72); Cl, 13.93 (13.79).

Ejemplo 26 (Ejemplo Comparativo):

- 15 (+)-*trans*-2-(2,4-dicloro-5-fluorofenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona sulfato

- 20 Se añadió solución de H₂SO₄ (solución metanólica 5%, 60 µL, 0.055 mmol) a la suspensión del compuesto del Ejemplo (19) (0.025 g, 0.055 mmol) en metanol (2 mL). Se agitó durante 5 min a 50-55 °C. La mezcla de reacción se concentró y el sólido se secó para obtener el compuesto, (+)-*trans*-2-(2,4-dicloro fenil-5-fluoro)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona sulfato.

Rendimiento: 0.025 g (82.24%);

MS (ES-): m/z 550 (M-1).

Ejemplo 27 (Ejemplo Comparativo):

(+)-*trans*-2-(2,4-dicloro-5-fluorofenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-

5 metilpirrolidin-3-il)-cromen- 4-ona nitrato

Se añadió solución de HNO₃ (solución metanólica 5%, 70 µL, 0.055 mmol) a la suspensión del compuesto del Ejemplo (19) (0.025 g, 0.055 mmol) en metanol (2 mL).

Se agitó durante 5 min. a 50-55 °C para obtener una solución clara. La mezcla de
10 reacción se concentró y el sólido se secó para obtener el compuesto, (+)-*trans*-2-(2,4-dicloro-5-fluorofenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-cromen-4-ona nitrato.

Rendimiento: 0.025 g (87.81%);

MS (ES-): m/z 515 (M-1).

15

Ejemplo 28 (Preparación de Producto Intermedio):

(+)-*trans*-2,4- ácido dicloro-benzoico 2-(2-acetoximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-6-acetil-
3,5-dimetoxi-fenil éster

20 Una mezcla del compuesto del ejemplo (6) (3 g, 8.9 mmol), 2,4- ácido diclorobenzoico (1.79 g, 9.3 mmoles), DCC (3.87 g, 18.7 mmol) y DMAP (1.148 g, 9.3 mmol), se disolvió en diclorometano (50 mL) y se agitó a temperatura ambiente durante 12 horas.

La mezcla de reacción se enfrió a 0 °C. La diciclohexilurea precipitada se filtró, la capa orgánica se concentró y el residuo se purificó por cromatografía en columna con 1% de metanol en cloroformo y 0.01% de amoníaco como eluyente para dar el compuesto, - (+)-*trans*-2,4- ácido dicloro-benzoico 2-(2-acetoximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-6-acetil- 3,5-dimetoxi-fenil éster, que se utilizó en la reacción posterior sin caracterización.

Rendimiento: 4.48 g (100%)

Ejemplo 29:

(+)-*trans*-2-(2,4-diclorofenil)-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi- cromen-4-ona

A una solución de n-BuLi (1.6 M en hexano, 10.67 mL, 17 mmol) en THF (25 mL), mantenida a 0 °C bajo atmósfera de nitrógeno, se le añadió hexametildisilazano (3.56 mL, 17 mmol) gota a gota y se agitó durante 15 min. A ésta se le añadió una solución del compuesto del Ejemplo (28) (4.48 g, 8.5 mmoles) en THF (25 mL) gota a gota, manteniendo la temperatura a 0 °C. Después de la adición, la reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 2.5 horas. La mezcla de reacción se acidificó con HCl diluido, y se basificó con 10% de bicarbonato de sodio a pH 8 - 9. La capa acuosa se extrajo con cloroformo (3 x 50 mL). La capa orgánica se lavó con agua (25 mL), salmuera (25 mL) y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. La capa orgánica se concentró a presión reducida y se secó al vacío para producir ácido acético 3-{3-[3-(2,4-diclorofenil)-3-oxopropionyl]-2-hidroxi-4,6-dimetoxifenil}-1-metil pirrolidin-2-ilmetil éster en forma de un sólido marrón (4.6 g). Este éster se disolvió en HCl conc. (50 mL)

y se agitó durante 3 horas para efectuar la ciclación. Al cabo de 3 horas, la mezcla de reacción se basificó con NaHCO_3 sólido a pH 8-9. La capa acuosa se extrajo con cloroformo (50 x 3 mL) y se lavó con agua (25 mL) y salmuera (25 mL). La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se concentró a presión reducida y se secó sobre vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna con 3% de metanol en cloroformo y 0.01% de amoníaco como eluyente para producir el compuesto, (+)- *trans*-2-(2,4-diclorofenil)-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona como un sólido de color amarillo.

Rendimiento: 3.2 g (81%);

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz): δ 7.74 (d, 1H), 7.55 (d, 1H), 7.42 (dd, 1H), 6.56 (s, 1 H), 6.47 (s, 1 H), 4.2 (m, 1 H), 4.02 (s, 3H), 3.99 (s, 3H), 3.68 (dd, 1H), 3.39 (dd, 1H), 3.23 (m, 1 H), 2.75 (m, 1 H), 2.63 (m, 1 H), 2.40 (s, 3H), 2.07 (m, 2H);

MS (ES +): m/z 464 (M +1).

Ejemplo 30 (Ejemplo Comparativo):

(+) - *trans*-2-(2,4-diclorofenil) -5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metil pirrolidin-3-il)-cromen-4-ona

Una mezcla del compuesto del Ejemplo (29) (3.2 g, 7.35 mmol), clorhidrato de piridina (3.2 g, 6.91 mmol) y una cantidad catalítica de quinolina se calentó a 180 °C durante un período de 2.5 horas. La mezcla de la reacción se diluyó con metanol (50 mL) y se basificó con Na_2CO_3 sólido hasta pH 10. La mezcla de reacción se filtró, y se lavó con metanol. La capa orgánica se concentró y el residuo se purificó por cromatografía en

columna usando 0.01% de amoníaco y 3% de metanol en cloroformo como eluyente para producir el compuesto, (+)-*trans*-2-(2,4-diclorofenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metil pirrolidin-3-il)-cromen-4-ona, como un sólido de color amarillo.

Rendimiento: 0.98 g (30%);

- 5 ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz): δ 12.5 (s, 1 H), 7.54 (m, 2H), 7.40 (m, 1 H), 6.40 (s, 1 H), 6.28 (s, 1 H), 4.08 (m, 1 H), 3.89 (m, 2H), 3.28 (m, 2H), 2.84 (m, 1 H), 2.65 (s, 3H), 2.45 (m, 1 H), 1.95 (m, 1 H); MS (ES +): m/z 436 (M +1).

Ejemplo 31 (Ejemplo Comparativo):

- 10 (+)-*trans*-2-(2,4-diclorofenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metil pirrolidin-3-il)-cromen-4-ona clorhidrato

El compuesto del ejemplo (30) (0.4 g, 0.9 mmol) se suspendió en metanol (2 mL) y se trató con HCl etéreo y el disolvente orgánico se evaporó para obtener el compuesto, (+)

- 15 -*trans*-2-(2,4-dicloro-fenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-cromen-4-ona clorhidrato.

Rendimiento: 0.4 g (92%);

- ^1H NMR (CD_3OD , 300 MHz): δ 7.80 (d, 1H), 7.30 (d, 1H), 7.54 (dd, 1H), 6.58 (s, 1 H), 6.37 (s, 1 H), 4.25 (m, 1 H), 3.90 (m, 2H), 3.59 (m, 2H), 3.41 (m, 1 H), 2.98 (s, 3H),
20 2.52 (m, 1 H), 2.29 (m, 1 H);

MS (ES-): m/z 470 (M-1).

Ejemplo 32 (Preparación de Producto Intermedio):

(+)-*trans*-4-bromo-2-ácido clorobenzoico 2-(2-acetoximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-6-acetil-3,5-dimetoxifenil éster

- 5 Una mezcla del compuesto del ejemplo (6) (1.95 g, 5.5 mmoles), 4-bromo-2-ácido clorobenzoico (1.44 g, 6.1 mmoles), DCC (2.29 g, 11 mmol) y DMAP (0.68 g, 5.5 mmoles) se disolvió en diclorometano (50 mL) y se agitó a temperatura ambiente durante 12 horas. La mezcla de reacción se enfrió a 0 °C, la dicitclohexilurea precipitada se filtró y la capa orgánica se concentró y el residuo se purificó por cromatografía en
- 10 columna con un 1% de metanol en cloroformo y un 0.01% de amoníaco como eluyente para proporcionar el compuesto, (+)-*trans*-4-bromo-2-ácido clorobenzoico -2-(2-acetoximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-6-acetil-3,5-dimetoxi-fenil éster

Rendimiento: 2.8 g (88.7%);

MS (ES +): m/z 569 (M +1).

15

Ejemplo 33 (Ejemplo Comparativo):

(+)-*trans*-2-(4-bromo-2-cloro-fenil)-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona

- 20 A una solución de n-BuLi (solución al 15% en hexano, 4.23 mL, 10 mmol) en THF (25 mL), mantenida a 0 °C bajo atmósfera de nitrógeno, se le añadió hexametildisilazano (2.1 mL, 10 mmol) gota a gota y se agitó durante 15 min. A ésta se le añadió una solución del compuesto del Ejemplo (32) (2.8 g, 5 mmol) en THF (25 mL) gota a gota,

manteniendo la temperatura a 0 °C. Después de la adición, la reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 2.5 horas. La mezcla de reacción se acidificó con HCl diluido, y se basificó con 10% de bicarbonato de sodio a pH 8 - 9. La capa acuosa se extrajo con cloroformo (3 x 50 mL). La capa orgánica se lavó con agua (25 mL), salmuera (25 mL) y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. La capa orgánica se concentró a presión reducida y se secó al vacío para producir ácido acético 3-{3-[3-(4-bromo-2-cloro-fenil)-3-oxo-propionil]-2-hidroxi-4,6-dimetoxi-fenil}-1-metil-pirrolidin-2-ilmetil éster como un sólido marrón (2.65 g). Este éster se disolvió en HCl conc. (20 mL) y se agitó durante 3 horas para efectuar la ciclación. Al cabo de 3 horas, la mezcla de reacción se basificó con NaHCO₃ sólido a pH 8 -9. La capa acuosa se extrajo con cloroformo (50 x 3 mL) y se lavó con agua (25 mL) y salmuera (25 mL). La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se concentró a presión reducida y se secó sobre vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna con 3% de metanol en cloroformo y un 0.01% de amoníaco como eluyente para producir el compuesto, (+)-*trans*-2-(4-bromo-2-cloro-fenil)-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona, como un sólido de color amarillo.

Rendimiento: 1.4 g (59%);

¹ H NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 7.69 (d, 1H), 7.66 (d, 1H), 7.55 (dd, 1H), 6.55 (s, 1 H), 6.45 (s, 1 H), 4.19 (m, 1 H), 4.00 (s, 3H), 3.98 (s, 3H), 3.66 (dd, 1H), 3.38 (m, 1 H), 3.23 (m, 1 H), 2.75 (m, 1 H), 2.63 (m, 1 H), 2.40 (s, 3H), 2.10 (m, 2H); MS (ES +): m/z 509 (M +1).

Ejemplo 34 (Ejemplo Comparativo):

(+)-*trans*-2-(4-bromo-2-clorofenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona

- 5 Una mezcla del compuesto del Ejemplo (33) (1.4 g, 2.75 mmol), clorhidrato de piridina (1.4 g, 12 mmol) y una cantidad catalítica de quinolina se calentó a 180 °C durante un período de 2.5 horas. La mezcla de reacción se diluyó con metanol (50 mL) y se basificó con Na₂CO₃ sólido hasta pH 10. La mezcla de reacción se filtró, y se lavó con metanol. La capa orgánica se concentró y el residuo se purificó por cromatografía en
- 10 columna usando un 0.01% de amoníaco y 3% de metanol en cloroformo como eluyente para producir el compuesto, (+)-*trans*-2-(4-bromo-2-clorofenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-cromen-4-ona, como un sólido de color amarillo.

Rendimiento: 0.88 g (60.6%);

- ¹ H NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 7.91 (m, 1 H), 7.87 (m, 1 H), 7.69 (m, 1 H), 6.41 (s, 1
- 15 H), 6.15 (s, 1 H), 4.03 (m, 1 H), 3.77 (dd, 1H), 3.66 (dd, 1H), 3.47 (m, 1 H), 3.33 (m, 1 H), 3.18 (m, 1 H), 2.76 (s, 3H), 2.24 (m, 2H);

MS (ES +): m/z 481 (M +1).

Ejemplo 35 (Ejemplo Comparativo):

- 20 (+) - *trans*-2-(4-bromo-2-clorofenil) -5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1 - metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona clorhidrato

El compuesto del ejemplo (34) (0.48 g, 1.0 mmol) se suspendió en metanol (2 mL) y se trató con HCl etéreo y el disolvente orgánico se evaporó para obtener el compuesto, (+)-*trans*-2-(4 -bromo-2-clorofenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona clorhidrato.

5 Rendimiento: 0.4 g (93%);

¹ H NMR (CD₃OD, 300 MHz): δ 7.87 (m, 1 H), 7.71 (m, 2H), 6.58 (s, 1 H), 6.38 (s, 1 H), 4.28 (m, 1 H), 3.90 (m, 2H), 3.73 (m, 1 H), 3.59 (m, 1 H), 3.45 (m, 1 H), 2.99 (s, 3H), 2.58 (m, 1 H), 2.28 (m, 1 H);

MS (ES-): m/z 515 (M-1).

10

Ejemplo 36 (Preparación de Producto Intermedio):

(+)-*trans*-2-Cloro-4- ácido cianobenzoico 2 (2-acetoximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-6-acetil-3,5-dimetoxi-fenil éster

15 Una mezcla del compuesto del ejemplo (6) (3.84 g, 10 mmol), 2-cloro-4-ciano-ácido benzoico (2.48 g, 13 mmol), DCC (4.51 g, 21 mmol) y DMAP (1.34 g, 10 mmol) se disolvió en diclorometano (50 mL) y se agitó a temperatura ambiente durante 12 horas. La mezcla de reacción se enfrió a 0 °C, la diciclohexilurea precipitada se filtró y la capa orgánica se concentró y el residuo se purificó por cromatografía en columna con 1% de
20 metanol en cloroformo y 0.01% de amoníaco como eluyente para dar el compuesto, (+)-*trans*-2-cloro-4-ácido cianobenzoico 2-(2-acetoximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-6-acetil-3,5- dimetoxifenil éster.

Rendimiento: 3.5 g (62%);

¹ H NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 8.19 (d, 1H), 7.79 (s, 1 H), 7.69 (d, 1H), 6.45 (s, 1 H), 4.10 (m, 1 H), 3.93 (s, 6H), 3.48 (m, 2H), 3.11 (m, 1 H), 2.72 (m, 1 H), 2.48 (s, 3H), 2.35 (s, 3H), 2.10 (m, 1 H), 1.92 (m, 2H), 1.74 (s, 3H);

MS (ES +): m/z 515 (M +1).

5

Ejemplo 37:

(+)-*trans*-2-(2-cloro-4-ciano-fenil)-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona

- 10 A una solución de n-BuLi (solución de 1.6 M en hexano, 17 mL, 27 mmol) en THF (50 mL), mantenida a 0 °C bajo atmósfera de nitrógeno, se añadió hexametildisilazano (5.7 mL, 27 mmol) gota a gota y se agitó durante 15 min. A ésta se le añadió una solución del compuesto del Ejemplo (36) (5.6 g, 10 mmol) en THF (50 mL) gota a gota, manteniendo la temperatura a 0 °C. Después de la adición, la reacción se dejó calentar a
- 15 temperatura ambiente y se agitó durante 2.5 horas. La mezcla de reacción se acidificó con HCl diluido, y se basificó con 10% de bicarbonato de sodio a pH 8 -9. La capa acuosa se extrajo con cloroformo (3 x 75 mL). La capa orgánica se lavó con agua (50 mL), salmuera (50 mL) y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. La capa orgánica se concentró a presión reducida y se secó al vacío para producir ácido acético 3-{3-[3-(2-cloro-4-
- 20 ciano-fenil)-3-oxo-propionil]-2-hidroxi-4,6-dimetoxi-fenil}-1-metil-pirrolidin-2-ilmetil éster en forma de aceite (6.1 g). Este éster se disolvió en HCl conc. (60 mL) y se agitó durante 3 horas para efectuar la ciclación. Al cabo de 3 horas, la mezcla de reacción se basificó con NaHCO₃ sólido a pH 8 - 9. La capa acuosa se extrajo con cloroformo (50 x

3 mL) y se lavó con agua (25 mL) y salmuera (25 mL). La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se concentró a presión reducida y se secó sobre vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna con un 3% de metanol en cloroformo y un 0.01% de amoníaco como eluyente para producir el compuesto, (+)-*trans*-2-(2-cloro-4-ciano-fenil)-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona, como un sólido de color amarillo.

Rendimiento: 0.75 g (15%);

IR (KBr): 3431, 2233, 1648, 1599 cm⁻¹;

¹ H NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 8.20 (d, 1H), 8.04 (s, 1 H), 7.88 (d, 1H), 6.65 (s, 1 H), 6.46 (s, 1 H), 4.25 (m, 1 H), 4.01 (s, 3H), 3.99 (s, 3H), 3.70 (m, 1 H), 3.35 (m, 2H), 2.75 (m, 2H), 2.43 (s, 3H), 2.10 (m, 2H);

MS (ES +): m/z 455 (M +1).

Ejemplo 38 (Ejemplo Comparativo):

(+)-*trans*-2-(2-cloro-4-ciano-fenil)-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona clorhidrato

El compuesto del ejemplo (37) (20 mg, 0.046 mmol) se suspendió en metanol (2 mL) y se trató con HCl etéreo y el disolvente orgánico se evaporó para obtener el compuesto, (+)-*trans*-2-(2-cloro-4-ciano-fenil)-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona clorhidrato.

Rendimiento: 20 mg (98%);

¹ H NMR (CD₃OD, 300 MHz): δ 8.08 (m, 1 H), 7.97 (m, 1 H), 7.86 (m, 1 H), 6.78 (s, 1 H), 6.58 (s, 1 H), 4.32 (m, 1 H), 4.10 (s, 3H), 4.01 (s, 3H), 3.84 (m, 2H), 3.75 (m, 1 H), 3.57 (m, 1 H), 3.41 (m, 1 H), 2.98 (s, 3H), 2.43 (m, 1 H), 2.31 (m, 1 H); MS (ES⁻): m/z 489 (M-1)

5

Ejemplo 39 (Ejemplo Comparativo):

(+)-*trans*-2-(2-cloro-4-cianofenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona

- 10 Una mezcla del compuesto del Ejemplo (37) (0.25 g, 0.55 mmol), clorhidrato de piridina (0.25 g, 2.2 mmol) y una cantidad catalítica de quinolina se calentó a 180 °C durante un período de 2.5 horas. La mezcla de reacción se diluyó con metanol (50 mL) y se basificó con Na₂CO₃ sólido hasta pH 10. La mezcla de reacción se filtró, y se lavó con metanol. La capa orgánica se concentró y el residuo se purificó por cromatografía
- 15 en columna utilizando un 0.01% de amoníaco y un 4.5% de metanol en cloroformo como eluyente para producir el compuesto, (+)-*trans*-2-(2-cloro-4-cianofenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-cromen-4-ona, como un sólido de color amarillo.

Rendimiento: 0.11 g (49.5%);

- 20 IR (KBr): 3396, 2234, 1656, 1615 cm⁻¹;

¹ H NMR (CD₃OD, 300 MHz): δ 8.05 (s, 1 H), 7.90 (m, 2H), 6.45 (s, 1 H), 6.11 (s, 1 H), 4.02 (m, 1 H), 3.75 (dd, 2H), 3.49 (m, 2H), 3.21 (m, 1 H), 2.76 (s, 3H), 2.23 (M, 2H); MS (ES⁺): m/z 427 (M +1)

Ejemplo 40 (Ejemplo Comparativo):

(+)-*trans*-2-(2-cloro-4-cianofenil) -5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1 -metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona clorhidrato

- 5 El compuesto del ejemplo (39) (0.1 g, 0.23 mmol) se suspendió en metanol (2 mL) y se trató con HCl etéreo y el disolvente orgánico se evaporó para obtener el compuesto, (+)-*trans*-2-(2-cloro -4-cianofenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona clorhidrato.

Rendimiento: 0.1 g (92.6%);

- 10 MS (ES-): m/z 461 (M-1).

Ejemplo 41 (Preparación de Producto Intermedio):

(+)-*trans*-2-cloro-4- ácido trifluorometilbenzoico 2-(2-acetoximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-6-acetil-3,5-dimetoxifenil éster

15

- Una mezcla del compuesto del ejemplo (6) (1.16 g, 3.2 mmoles), 2-cloro-4-ácido trifluorometilbenzoico (0.88 g, 4 mmol), DCC (1.35 g, 6.5 mmol) y DMAP (0.4 g, 3.27 mmol) se disolvió en diclorometano (50 mL) y se agitó a temperatura ambiente durante 12 horas. La mezcla de reacción se enfrió a 0 °C, la dicitclohexilurea precipitada se filtró y la capa orgánica se concentró y el residuo se purificó por cromatografía en columna con un 1% de metanol en cloroformo y un 0.01% de amoníaco como eluyente para obtener el compuesto, (+)-*trans*-2-cloro-4-ácido trifluorometilbenzoico 2-(2-acetoximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-6-acetil-3,5-dimetoxifenil éster.
- 20

Rendimiento: 1.44 g (78.8%);

¹ H NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 8.19 (d, 1H), 7.79 (s, 1 H), 7.69 (d, 1H), 6.45 (s, 1 H), 4.14 (m, 1 H), 3.93 (s, 6H), 3.52 (m, 1 H), 3.17 (m, 1 H), 2.63 (m, 1 H), 2.48 (s, 3H), 2.41 (s, 3H), 2.15 (m, 1 H), 2.05 (m, 1 H), 1.81 (s, 3H), 1.62 (m, 2H);

5 MS (ES +): m/z 558 (M +1)

Ejemplo 42 (Ejemplo de un Compuesto de la Invención):

(+)- *trans*-2-(2-cloro-4-trifluorometilfenil) -8 - (2-hidroximetil-1-metil pirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona

10

A una solución de n-BuLi (solución al 15% en hexano, 2.2 mL, 5 mmol) en THF (10 mL), mantenida a 0 °C bajo atmósfera de nitrógeno, se le añadió hexametildisilazano (1.08 mL, 5.1 mmoles) gota a gota y se agitó durante 15 min. A ésta se le añadió una solución del compuesto del Ejemplo (41) (1.44 g, 2.5 mmoles) en THF (10 mL) gota a
 15 gota, manteniendo la temperatura a 0 °C. Después de la adición, la reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 2.5 horas. La mezcla de reacción se acidificó con HCl diluido, y se basificó con un 10% de bicarbonato de sodio a un pH de 8 a 9. La capa acuosa se extrajo con cloroformo (3 x 25 mL). La capa orgánica se lavó con agua (25 mL), salmuera (25 mL) y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. La capa orgánica
 20 se concentró a presión reducida y se secó al vacío para producir ácido acético 3-3-[3-(2-cloro-4-trifluorometil-fenil)-3-oxo-propionil]-2-hidroxi-4,6-dimetoxi-fenil}-1 -metil-pirrolidin-2-ilmetil éster en forma de un aceite (1.3 g, 90.2%). Este éster se disolvió en HCl conc. (10 mL) y se agitó durante 3 horas para efectuar la ciclación. Al cabo de 3

horas, la mezcla de reacción se basificó con NaHCO_3 sólido a pH 8 a 9. La capa acuosa se extrajo con cloroformo (25 x 3 mL) y se lavó con agua (25 mL) y salmuera (25 mL). La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se concentró a presión reducida y se secó sobre vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna con un 3% de metanol en cloroformo y un 0.1% de amoníaco como eluyente para producir el compuesto, (+)-*trans*-2-(2-cloro-4-trifluorometilfenil)-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il) -5,7-dimetoxi-cromen-4-ona como un sólido de color amarillo.

Rendimiento: 0.56 g (48.2%);

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz): δ 7.95 (d, 1H), 7.78 (s, 1 H), 7.69 (d, 1H), 6.61 (s, 1 H), 6.46 (s, 1 H), 4.21 (m, 1 H), 4.01 (s, 3H), 3.93 (s, 3H), 3.71 (dd, 1H), 3.41 (d, 1H), 3.26 (m, 1 H), 2.84 (m, 1 H), 2.70 (m, 1 H), 2.44 (s, 3H), 2.10 (m, 2H);

MS (ES +): m/z 497 (M +1)

Ejemplo 43 (Ejemplo de un Compuesto de la Invención):

(+)-*trans*-2-(2-cloro-4-trifluorometil-fenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroxi-metil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona

Una mezcla del compuesto del Ejemplo (42) (0.25 g, 0.5 mmol), clorhidrato de piridina (0.25 g, 2.16 mmol) y una cantidad catalítica de quinolina se calentó a 180 °C durante un período de 2.5 horas. La mezcla de reacción se diluyó con metanol (25 mL) y se basificó con Na_2CO_3 sólido hasta pH 10. La mezcla de reacción se filtró, y se lavó con metanol. La capa orgánica se concentró y el residuo se purificó por cromatografía en columna usando un 0.1% de amoníaco y un 4.5% de metanol en cloroformo como

eluyente para producir el compuesto, (+)-*trans*-2-(2-cloro-4-trifluorometilfenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroxi-metil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona, como un sólido de color amarillo.

Rendimiento: 0.15 g (63.7%);

5 ¹ H NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 7.99 (m, 2H), 7.83 (d, 1H), 6.65 (s, 1 H), 6.41 (s, 1 H), 4.24 (m, 1 H), 3.90 (m, 2H), 3.70 (m, 1 H), 3.60 (m, 1 H), 3.41 (m, 1 H), 2.99 (s, 3H), 2.54 (m, 1 H), 2.28 (m, 1 H);

MS (ES +): m/z 470 (M +1)

10 Ejemplo 44 (Ejemplo de un Compuesto de la Invención):

(+)-*trans*-2-(2-cloro-4-trifluorometilfenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroxi-metil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona clorhidrato

Se preparó el compuesto del ejemplo (43) (0.1 g, 0.2 mmol) suspendido en metanol (2
15 mL) y se trató con HCl etéreo y el disolvente orgánico se evaporó para producir el compuesto, (+)-*trans*-2-(2-cloro-4-trifluorometil-fenil) -5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-cromen-4-ona clorhidrato.

Rendimiento: 0.1 g (92.8%);

¹ H NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 8.02 (d, 2H), 7.83 (d, 1H), 6.64 (s, 1 H), 6.41 (s, 1 H),
20 4.23 (m, 1 H), 3.73 (m, 2H), 3.68 (m, 1 H), 3.51 (m, 1 H), 3.39 (m, 1 H), 2.99 (s, 3H), 2.54 (m, 1 H), 2.31 (m, 1 H).

Ejemplo 45 (Preparación de un Producto Intermedio):

(+)-*trans*-2-Cloro-4- ácido nitro-benzoico 2 - (2-acetoximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-6-acetil-3,5-dimetoxifenil éster

2-cloro-4- ácido nitrobenzoico (13 g, 64 mmoles) y cloruro de tionilo (40 mL) se
 5 calentaron juntos a 85 0 °C durante 3 horas. El exceso de cloruro de tionilo se evaporó
 bajo presión reducida y el residuo se secó al vacío y se disolvió en THF (100 mL). Se
 añadió gota a gota a una solución del compuesto del ejemplo (6) (15 g, 42 mmol) y
 trietilamina (29.5 mL, 213 mmol) en THF (100 mL) mantenida a 15 - 20 °C. La mezcla
 de reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 12 horas. Al cabo
 10 de 12 horas, la mezcla de reacción se concentró para eliminar el THF, se acidificó con
 HCl diluido, se basificó con solución de NaHCO₃ al 10% a pH 10, se extrajo con
 EtOAc (3 x 100mL), se lavó con agua (50 mL), salmuera (50 mL) y la capa orgánica se
 secó sobre Na₂SO₄ anhidro. La capa orgánica se concentró a presión reducida para
 obtener el compuesto, (+)-*trans*-2-cloro-4- ácido nitrobenzoico 2 -(2-acetoximetil-1-
 15 metil-pirrolidin-3-il)-6-acetil-3,5-dimetoxifenil éster, como un aceite que se utilizó
 como tal para la reacción posterior sin purificación.

Rendimiento: 24.8 g (71.7%);

¹ H NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 8.35 (s, 1 H), 8.25 (m, 2H), 6.47 (s, 1 H), 4.17 (m, 1 H),
 3.94 (s, 6H), 3.59 (m, 1 H), 3.17 (m, 1 H), 2.80 (m, 1 H), 2.49 (s, 6H), 2.46 (m, 2H),
 20 2.17 (m, 1 H), 1.95 (m, 1 H), 1.83 (s, 3H);

MS (ES +): m/z 535 (M +1).

Ejemplo 46 (Ejemplo Comparativo):

(+)-*trans*-2-(2-cloro-4-nitrofenil)-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona

- 5 Se añadió una solución del compuesto del Ejemplo (45) (20 g, 37.5 mmol) en dioxano (150 mL) gota a gota a una suspensión de hidruro de sodio (dispersión al 60%, 5.68 g, 142 mmol) en dioxano (50 mL) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 12 horas. La mezcla de reacción se inactivó con adición gota a gota de metanol y los disolventes se evaporaron a presión reducida. El residuo se acidificó con HCl
- 10 diluido, se basificó con solución de NaHCO₃ al 10% a pH 8 a 9 y se extrajo con EtOAc (3 x 250 mL). La capa orgánica se lavó con agua (50 mL), salmuera (50 mL), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró a presión reducida para proporcionar ácido acético 3-{3-[3-(2-cloro-4-nitrofenil) -3-oxopropionyl]-2-hidroxi-4 ,6-dimetoxifenil}-1-metil-pirrolidin-2-ilmetil éster en forma de un aceite (18.2 g). Este éster se disolvió en HCl
- 15 conc. (50 mL) y se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. Al cabo de 3 horas, la mezcla de reacción se basificó con NaHCO₃ sólido a pH 8 a 9. La capa acuosa se extrajo con cloroformo (3 x 250 mL) y se lavó con agua (50 mL) y salmuera (50 mL). La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se concentró a presión reducida y se secó sobre vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna con un 3% de
- 20 metanol en cloroformo y un 0.1% de amoníaco como eluyente para producir el compuesto (+)-*trans*-2-(2-cloro-4-nitrofenil)- 8-(2-hidroximetil- 1-metilpirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona como un sólido de color amarillo pálido.

Rendimiento: 9.5 g (53.5%);

IR (KBr): 3447, 1648, 1600, 1570 cm⁻¹;

¹ H NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 8.37 (d, 1H), 8.26 (dd, 1H), 8.09 (d, 1H), 6.67 (s, 1H), 6.46 (s, 1H), 4.18 (m, 1H), 4.01 (s, 3H), 3.98 (s, 3H), 3.67 (m, 1H), 3.32 (m, 1H), 3.19 (m, 1H), 2.62 (m, 2H), 2.36 (s, 3H), 2.04 (m, 2H);

MS (ES +): m/z 475 (M⁺)

5

Ejemplo 47 (Ejemplo Comparativo):

(+)-*trans*-2-(2-cloro-4-nitrofenil)-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona clorhidrato

- 10 El compuesto del ejemplo (46) (0.05 g, 0.105 mmol) se suspendió en metanol (2 mL) y se trató con HCl etéreo y el disolvente orgánico se evaporó para obtener el compuesto, (+)-*trans*-2-(2-cloro-4-nitrofenil)-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona clorhidrato.

- Rendimiento: 0.05 g (53.7%); ¹ H NMR (CD₃OD, 300 MHz): δ 8.50 (d, 1H), 8.27 (dd, 1H), 8.09 (d, 1H), 6.79 (s, 1H), 6.62 (s, 1H), 4.28 (m, 1H), 4.11 (s, 3H), 4.02 (s, 3H), 3.88 (m, 2H), 3.72 (m, 1H), 3.50 (m, 2H), 2.99 (s, 3H), 2.49 (m, 1H), 2.26 (m, 1H); MS (ES +): m/z 511 (M⁺).
- 15

Ejemplo 48 (Ejemplo Comparativo):

- 20 (+)-*trans*-2-(2-cloro-4-nitrofenil)-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona gluconato

El compuesto del ejemplo (46) (6.4 g, 13.4 mmol) se suspendió en metanol (300 mL) y se trató con ácido glucónico (2.63 g, 13.4 mmoles) y el disolvente orgánico se evaporó para obtener el compuesto, (+)-*trans*-2-(2-cloro-4-nitrofenil)-8- (2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona gluconato.

5 Rendimiento: 8.5 g (93.9%);

m.p.: 137 -140 °C;

IR (KBr): 3404, 1648, 1601, 1524 cm⁻¹;

¹ H NMR (CD₃OD, 300 MHz): δ 8.50 (d, 1H), 8.33 (dd, 1H), 8.09 (d, 1H), 6.78 (s, 1 H), 6.61 (s, 1 H), 4.31 (m, 1 H), 4.15 (s, 3H), 4.01 (s, 3H), 3.72 (m, 11 H), 2.95 (s, 3H), 2.4

10 (m, 1 H), 2.30 (m, 1 H); [α]_D²⁵: +11.76 ° (c = 0.76, MeOH);

MS (ES +): m/z 475 (M +1), Base libre.

Ejemplo 49 (Ejemplo Comparativo):

(+)- *trans*-2-(2-cloro-4-nitrofenil) -5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1 - metilpirrolidin-3-
15 il)-cromen-4-ona

Una mezcla del compuesto del Ejemplo (46) (4.2 g, 8.8 mmol), clorhidrato de piridina (4.2 g, 36 mmol) y una cantidad catalítica de quinolina se calentó a 180 °C durante un período de 2 horas. La mezcla de reacción se enfrió y se diluyó con metanol (50 mL) y
20 se basificó con Na₂CO₃ sólido hasta pH 10. La mezcla de reacción se filtró, y se lavó con metanol. La capa orgánica se concentró y el residuo se purificó por cromatografía en columna usando un 0.1% de amoníaco y un 3% de metanol en cloroformo como

eluyente para producir el compuesto, (+)-*trans*-2-(2-cloro-4-nitro-fenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il) cromen-4-ona como un sólido amarillo.

Rendimiento: 2.8 g (70.88%);

¹ H NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 8.48 (d, 1H), 8.34 (dd, 1H), 8.02 (d, 1H), 6.48 (s, 1 H),
5 6.12 (s, 1 H), 4.03 (m, 1 H), 3.74 (m, 2H), 3.64 (m, 1 H), 3.60 (m, 1 H), 3.22 (m, 1 H),
2.77 (s, 3H), 2.22 (m, 2H);

MS (ES +): m/z 447 (M +1)

Ejemplo 50 (Ejemplo Comparativo):

10 (+)-*trans*-2-(2-cloro-4-nitrofenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona clorhidrato

El compuesto del ejemplo (49) (2.8 g, 6.2 mmol) se suspendió en metanol (10 mL) y se trató con HCl etéreo y el disolvente orgánico se evaporó para obtener el compuesto, (+)-
15 *trans*-2-(2-cloro-4-nitrofenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona clorhidrato.

Rendimiento: 2.7 g (92.5%);

¹ H NMR (CD₃OD, 300 MHz): δ 8.51 (d, 1H), 8.36 (dd, 1H), 8.09 (d, 1H), 6.69 (s, 1 H),
6.41 (s, 1 H), 4.25 (m, 1 H), 3.91 (m, 2H), 3.73 (m, 1 H), 3.70 (m, 1 H), 3.63 (M, 1 H),
20 3.00 (s, 3H), 2.55 (m, 1 H), 2.32 (m, 1 H);

MS (ES +): m/z 483 (M +1);

[α]_D²⁵: 13.0 ° (c = 0.2, metanol).

Ejemplo 51 (Ejemplo Comparativo):

(+)-*trans*-2-(4-amino-2-clorofenil)-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona

- 5 El compuesto del ejemplo (46) (1.0 g, 2.1 mmol), cloruro de estaño (1.9 g, 8.4 mmol) y EtOAc (5 mL) se agitaron juntos a temperatura ambiente durante 12 horas. Al cabo de 12 horas, la mezcla de reacción se basificó con solución de NaOH al 10% a pH 10 y se extrajo con EtOAc (3 x 10 mL). Las capas orgánicas se combinaron, se lavaron con agua (10 mL), salmuera (10 mL), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró a
- 10 presión reducida para producir el compuesto, (+)-*trans*-2-(4-amino-2-clorofenil)-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il) -5,7-dimetoxi-cromen-4-ona, como un sólido.

Rendimiento: 0.74 g (79%);

MS (ES +): 445 (M +1).

- 15 Ejemplo 52 (Ejemplo Comparativo):

(+)- *trans*-2-(4-amino-2-clorofenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1 - metilpirrolidin-3-il) cromen-4-ona (Compuesto-1)

(+)-*trans*-2-(2-cloro-4-metilamino fenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona (Compuesto-2)

20

Una mezcla del compuesto del Ejemplo (51) (0.7 g, 1.57 mmol), clorhidrato de piridina (0.7 g, 6 mmol) y una cantidad catalítica de quinolina se calentó a 180 °C durante un

período de 2.5 horas. La mezcla de reacción se enfrió y se diluyó con metanol (25 mL) y se basificó con Na₂CO₃ sólido hasta pH 10. La mezcla de reacción se filtró, y se lavó con metanol. La capa orgánica se concentró y el residuo se purificó por cromatografía en columna usando 0.1% de amoníaco y 3% de metanol en cloroformo como eluyente para dar los compuestos, (+)-*trans*-2-(4-amino-2-clorofenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona (Compuesto-1) y (+)-*trans*-2-(2-cloro-4-metilaminofenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-cromen-4-ona (Compuesto-2) en forma de sólidos amarillos.

Compuesto-1: Rendimiento: 0.25 g (38%); MS (ES +): 417 (M +1)

10 Compuesto-2: Rendimiento: 0.13 g (19%); MS (ES +): 431 (M +1).

Ejemplo 53 (Ejemplo Comparativo):

(+)-*trans*-2-(4-amino-2-clorofenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona clorhidrato

15

El compuesto (+)- *trans*-2-(4-amino-2-clorofenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona (0.25 g, 0.6 mmol) se suspendió en metanol (2 mL) y se trató con HCl etéreo y el disolvente orgánico se evaporó para producir el compuesto, (+)-*trans*-2-(fenil 4-amino-2-cloro)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona clorhidrato.

20

Rendimiento: 0.26 g (96%);

¹ H NMR (CD₃OD, 300 MHz): δ 7.78 (d, 1H), 7.26 (d, 1H), 7.13 (dd, 1H), 6.56 (s, 1 H), 6.36 (s, 1 H), 4.30 (m, 1 H), 3.91 (m, 2H), 3.80 (m, 1 H), 3.60 (dd, 1H), 3.46 (m, 1 H), 3.00 (s, 3H), 2.52 (m, 1 H), 2.29 (m, 1 H);

MS (ES +): 417 (M +1), base libre; MS (ES-): 451 (M-1)

5

Ejemplo 54 (Ejemplo Comparativo):

(+)-*trans*-2-(2-cloro-4-metilaminofenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona clorhidrato

10 El compuesto, (+)-*trans*-2-(2-cloro-4-metilaminofenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona (0.13 g, 0.3 mmol) se suspendió en metanol (2 mL) y se trató con HCl etéreo y el disolvente orgánico se evaporó para obtener la sal, (+)-*trans*-2-(2-cloro-4-metilaminofenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona clorhidrato

15 Rendimiento: 0.13 g (96%);

¹ H NMR (CD₃OD, 300 MHz): δ 7.67 (d, 1H), 6.86 (d, 1H), 6.80 (dd, 1H), 6.54 (s, 1 H), 6.34 (s, 1 H), 4.32 (m, 1 H), 3.94 (m, 2H), 3.64 (m, 1 H), 3.58 (dd, 1H), 3.44 (m, 1 H), 3.00 (s, 3H), 2.86 (s, 3H), 2.53 (m, 1 H), 2.33 (m, 1 H);

MS(ES +): 431 (M +1), base libre; MS (ES-): 465 (M-1).

20

Ejemplo 55 (Preparación de Producto Intermedio):

(+)-*trans*-2-cloro-4-pirrolidin-1-ácido ilbenzoico 2 -(2-acetoximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-6-acetil-3,5-dimetoxifenil éster

- 5 Se agitó 2-cloro-4-pirrolidin-1-ácido ilbenzoico (1.0 g, 4.4 mmol), cloruro de tionilo (0.35 mL, 4.8 mmol), N-metilpirrolidin-2-ona (0.1 mL) y diclorometano (20 mL) conjuntamente a temperatura ambiente durante 12 horas. A esta solución, se añadió el compuesto del ejemplo (6) (0.86 g, 2.4 mmol) y la mezcla se enfrió a 0 a 5 °C. Después de enfriar, se añadió trietilamina (1.7 mL, 12.7 mmol) y la mezcla de reacción se dejó
- 10 calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 4 horas. La mezcla se diluyó con cloroformo (25 mL), se lavó con NaHCO₃ al 10% (10 mL), agua (10 mL), salmuera (10 mL) y la capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. La capa orgánica se concentró a presión reducida para producir el compuesto, (+)-*trans*-2-cloro-4-pirrolidin-1-ácido ilbenzoico 2 -(2-acetoximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-6-acetil-3,5-dimetoxifenil éster
- 15 como un sólido que se utilizó como tal para la reacción posterior sin purificación.

Rendimiento: 1.37 g (100%);

MS (ES +): 559 (M +1).

Ejemplo 56 (Ejemplo Comparativo):

- 20 (+)-*trans*-2-(2-cloro-4-pirrolidin-1-il-fenil)-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona

A una solución de n-BuLi (1.6 M en hexano, 3 mL, 4.8 mmol) en THF (10 mL), mantenida a 0 °C bajo atmósfera de nitrógeno, se añadió hexametildisilazano (1 mL, 4.75 mmol) gota a gota y se agitó durante 15 min. A ésta se le añadió una solución del compuesto del Ejemplo (55) (1.37 g, 2.45 mmoles) en THF (5 mL) gota a gota, manteniendo la temperatura a 0 °C. Después de la adición, la mezcla de reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 2.5 horas. La mezcla de reacción se acidificó con HCl diluido, y se basificó con un 10% de bicarbonato de sodio a pH 8 - 9. La capa acuosa se extrajo con cloroformo (3 x 50 mL). La capa orgánica se lavó con agua (25 mL), salmuera (25 mL) y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. La capa orgánica se concentró a presión reducida y se secó al vacío para producir ácido acético 3-{3-[3-(2-cloro-4-pirrolidin-1-il-fenil)-3-oxo-propionil]-2-hidroxi-4,6-dimetoxi-fenil}-1-metil-pirrolidin-2-ilmetil éster como un sólido marrón (0.97 g, 70.8%). Este éster se disolvió en 5 mL de HCl conc. y se agitó durante 3 horas para efectuar la ciclación. Al cabo de 3 horas, la mezcla de reacción se basificó con Na₂CO₃ sólido hasta pH 10. La capa acuosa se extrajo con cloroformo (3 x 25 mL) y se lavó con agua (10 mL) y salmuera (10 mL). La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se concentró a presión reducida y se secó sobre vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna con un 3% de metanol en cloroformo y un 0.1% de amoníaco como eluyente para producir el compuesto, (+)-*trans*-2-(2-cloro-4-pirrolidin-1-il-fenil)-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona como un sólido de color marrón.

Rendimiento: 0.4 g (46.5%);

¹ H NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 7.62 (d, 1H), 6.58 (m, 2H), 6.50 (m, 1 H), 6.42 (s, 1 H), 4.24 (m, 1 H), 3.99 (s, 3H), 3.96 (s, 3H), 3.68 (m, 1 H), 3.48 (m, 1 H), 3.32 (m, 5H), 2.88 (m, 1 H), 2.77 (m, 1 H), 2.53 (s, 3H), 2.05 (m, 6H);

MS (ES +): 499 (M +1).

Ejemplo 57 (Ejemplo Comparativo):

(+)-*trans*-2-(2-cloro-4-pirrolidin-1-il-fenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroxi metil-1-
5 metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona

Una mezcla del compuesto del Ejemplo (56) (0.4 g, 0.8 mmol), clorhidrato de piridina (0.4 g, 3.46 mmol) y una cantidad catalítica de quinolina se calentó a 180 °C durante un período de 2.5 horas. La mezcla de reacción se diluyó con metanol (50 mL) y se basificó con Na₂CO₃ sólido hasta pH 10. La mezcla de reacción se filtró, y se lavó con
10 metanol. La capa orgánica se concentró y el residuo se purificó por cromatografía en columna usando un 0.1% de amoníaco y un 3% de metanol en cloroformo como eluyente para producir el compuesto, (+)-*trans*-2-(2-cloro-4-pirrolidin-1-il-fenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona como un sólido amarillo.

15 Rendimiento: 23 mg (6.6%);

¹ H NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 12.82 (s, 1 H), 7.47 (d, 1H), 6.62 (d, 1H), 6.52 (dd, 1H), 6.45 (s, 1 H), 6.30 (s, 1 H), 4.2 (m, 1 H), 3.88 (m, 2H), 3.34 (m, 5H), 2.96 (m, 1 H), 2.68 (s, 3H), 2.40 (m, 1 H), 2.09 (m, 6H);

MS (ES +): 471 (M +1).

20

Ejemplo 58 (Ejemplo Comparativo):

(+)-*trans*-2-(2-cloro-4-pirrolidin-1-il-fenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroxi metil-1-
metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona clorhidrato

El compuesto del ejemplo (57) (23 mg, 0.049 mmol) se suspendió en metanol (2 mL) y se trató con HCl etéreo y el disolvente orgánico se evaporó para obtener la sal, (+)-*trans*-2-(2-cloro-4-pirrolidin-1-il-fenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-

5 metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona clorhidrato.

Rendimiento: 23 mg (92.8%);

¹ H NMR (CD₃OD, 300 MHz): δ 7.66 (d, 1H), 6.69 (d, 1H), 6.62 (dd, 1H), 6.54 (s, 1 H), 6.36 (s, 1 H), 4.32 (m, 1 H), 3.90 (m, 2H), 3.71 (m, 1 H), 3.57 (m, 1 H), 3.61 (m, 1 H), 3.37 (m, 4H), 3.06 (s, 3H), 2.54 (m, 1 H), 2.29 (m, 1 H)), 2.06 (m, 4H); MS (ES-): 505

10 (M-1).

Ejemplo 59:

(+)-*trans*-2-cloro-4- ácido isopropilaminobenzoico 2 -(2-acetoximetil-1-metil pirrolidin-3-il) 6-acetil-3,5-dimetoxifenil ester

15

2-Cloro-4-ácido isopropilaminobenzoico (1.0 g, 4.6 mmol), cloruro de tionilo (0.38 mL, 5.1 mmol), N-metilpirrolidin-2-ona (0.1 mL) y diclorometano (20 mL) se agitaron juntos a temperatura ambiente durante 12 horas. A esta solución, se le añadió el compuesto del ejemplo (6) (0.91 g 2.5 mmol) y la mezcla se enfrió a 0 a 5 °C. Después

20 de enfriar, se añadió trietilamina (1.7 mL, 12 mmol) y la reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 4 horas. La mezcla de reacción se filtró para eliminar el clorhidrato de trietilamina precipitado y la capa orgánica se concentró bajo

presión reducida para obtener el compuesto del título como un sólido que se utilizó como tal para la reacción posterior sin purificación.

Rendimiento: 0.95 g (67%); MS (ES +): 547 (M +1)

5 Ejemplo 60 (Ejemplo Comparativo):

(+)-*trans*-2-(2-cloro-4-isopropilaminofenil)-8-(2-hidroximetil-1-metil pirrolidin-3-il) -
5,7-dimetoxi-cromen-4-ona

A una solución de n-BuLi (1.6 M en hexano, 2.22 mL, 3.56 mmol) en THF (10 mL),
10 mantenida a 0 °C bajo atmósfera de nitrógeno, se añadió hexametildisilazano (0.74 mL,
3.56 mmol) gota a gota y se agitó durante 15 min. A ésta se le añadió una solución del
compuesto del Ejemplo (59) (0.95 g, 1.78 mmoles) en THF (5 mL) gota a gota,
manteniendo la temperatura a 0 °C Después de la adición, la reacción se dejó calentar a
temperatura ambiente y se agitó durante 2.5 horas. La mezcla de reacción se acidificó
15 con HCl diluido, y se basificó con un 10% de bicarbonato de sodio a pH 8 - 9. La capa
acuosa se extrajo con cloroformo (3 x 50 mL). La capa orgánica se lavó con agua (25
mL), salmuera (25 mL) y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. La capa orgánica se concentró
a presión reducida y se secó al vacío para producir ácido acético 3-{3-[3-(2-cloro-4-
isopropilamino-fenil)-3-oxo-propionil]-2-hidroxi-4,6-dimetoxi-fenil}-1-metil-pirrolidin-
20 2-ilmetil éster como un sólido marrón (0.95 g). Este éster se disolvió en HCl conc. (5
mL) y se agitó durante 3 horas para efectuar la ciclación. Al cabo de 3 horas, la mezcla
de reacción se basificó con NaHCO₃ sólido a pH 8 - 9. La capa acuosa se extrajo con
cloroformo (3 x 25 mL) y se lavó con agua (10 mL) y salmuera (10 mL). La capa

orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se concentró a presión reducida y se secó sobre vacío para producir el compuesto, (+)-*trans*-2-(2-cloro-4-isopropilaminofenil)-8-(2-hidroxi-1-metilpirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona, como un sólido de color marrón que fue llevado adelante sin purificación adicional.

5 Rendimiento: 0.7 g (92.5%)

Ejemplo 61 (Ejemplo Comparativo):

(+)-*trans*-2-(2-cloro-4-isopropilaminofenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroxi metil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona

10

Una mezcla del compuesto del ejemplo (60) (0.7 g, 1.4 mmol), clorhidrato de piridina (0.7 g, 6 mmol) y una cantidad catalítica de quinolina se calentó a 180 °C durante un período de 2.5 horas. La mezcla de reacción se diluyó con metanol (25 mL) y se basificó con Na₂CO₃ sólido hasta pH 10. La mezcla de reacción se filtró, y se lavó con metanol. La capa orgánica se concentró y el residuo se purificó por cromatografía en columna usando 0.1% de amoníaco y 3% de metanol en cloroformo como eluyente para producir el compuesto, (+)-*trans*-2-(2-cloro-4-isopropilamino-fenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona, como un sólido de color amarillo.

15

Rendimiento: 20 mg (3%);

20

¹ H NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 7.38 (d, 1H), 6.63 (d, 1H), 6.51 (dd, 1H), 6.39 (s, 1 H), 6.27 (s, 1 H), 4.15 (m, 1 H), 3.94 (m, 2H), 3.67 (m, 1 H), 3.27 (m, 1 H), 2.9 (m, 2H), 2.65 (s, 3H), 2.43 (m, 2H), 1.25 (d, 6H);

MS (ES +): 459 (M + 1).

Ejemplo 62 (Ejemplo Comparativo):

(+)-*trans*-2-(2-cloro-4-isopropilaminofenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroxi metil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona clorhidrato

5

El compuesto del ejemplo (61) (20 mg, 0.043 mmol) suspendido en metanol (2 mL) y se trató con HCl etéreo y el disolvente orgánico se evaporó para dar la sal, (+)-*trans*-2-(2-cloro-4-isopropilaminofenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-clorhidrato de hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona clorhidrato.

10 Rendimiento: 20 mg (95%);

¹ H NMR (CD₃OD, 300 MHz): δ 7.72 (d, 1H), 7.04 (d, 1H), 6.92 (dd, 1H), 6.58 (s, 1 H), 6.37 (s, 1 H), 4.35 (m, 1 H), 3.95 (m, 1 H), 3.8 (m, 1 H), 3.75 (m, 2H), 3.65 (dd, 1H), 3.40 (m, 1 H) , 3.0 (s, 3H), 2.53 (m, 1 H), 2.32 (m, 1 H), 1.29 (d, 6H);

MS (ES⁻): 493 (M-1).

15

Ejemplo 63 (Preparación de Producto Intermedio):

(+)-*trans*-2,4-ácido dibromobenzoico 2 -(2-acetoximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-6-acetil-3,5-dimetoxifenil éster

Una mezcla del compuesto del ejemplo (6) (0.84 g, 2.3 mmol), 2,4-ácido
20 dibromobenzoico (0.8 g, 2.8 mmoles), DCC (0.98 g, 4.7 mmol) y DMAP (0.3 g, 2.3 mmol) se disolvió en diclorometano (25 mL) y se agitó a temperatura ambiente durante 12 horas. La mezcla de reacción se enfrió a 0 °C, la dicitclohexilurea precipitada se filtró

y la capa orgánica se concentró y el residuo se purificó por cromatografía en columna con un 1% de metanol en cloroformo y un 0.1% de amoníaco como eluyente para dar el compuesto, (+)-*trans*-2,4-dibromo- ácido benzoico 2 -(2-acetoximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-6-acetil-3,5-dimetoxifenil éster.

5 Rendimiento: 1.14 g (78%);

¹ H NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 8.19 (s, 1 H), 7.55 (m, 2H), 6.44 (s, 1 H), 4.2 (m, 2H), 3.91 (s, 6H), 3.60 (m, 1 H), 3.18 (m, 1 H), 2.84 (m, 1 H), 2.60 (s, 3H), 2.48 (s, 3H), 2.13 (m, 1 H), 1.94 (m, 2H), 1.80 (s, 3H);

MS (ES +): 614 (M +1).

10

Ejemplo 64 (Ejemplo Comparativo):

(+)-*trans*-2-(2,4-Dibromofenil)-8- (2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona

15 A una solución de n-BuLi (15% en hexano, 2.38 mL, 5.6 mmol) en THF (10 mL), mantenida a 0 °C bajo atmósfera de nitrógeno, se añadió hexametildisilazano (1.67 mL, 8 mmol) gota a gota y se agitó durante 15 min. A ésta se le añadió una solución del compuesto del Ejemplo (63) (1.14 g, 1.8 mmoles) en THF (10 mL) gota a gota, manteniendo la temperatura a 0 °C. Después de la adición, la reacción se dejó calentar a

20 temperatura ambiente y se agitó durante 2.5 horas. La mezcla de reacción se acidificó con HCl diluido, y se basificó con un 10% de bicarbonato de sodio a un pH de 8 a 9. La capa acuosa se extrajo con cloroformo (3 x 25 mL). La capa orgánica se lavó con agua (25 mL), salmuera (25 mL) y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. La capa orgánica se

concentró a presión reducida y se secó al vacío para producir ácido acético 3-{3-[3-(2,4-dibromofenil)-3-oxopropionyl]-2-hidroxi-4,6-dimetoxifenil}-1-metil pirrolidin-2-ilmetil éster en forma de un sólido marrón (1.2 g). Este éster se disolvió en HCl conc. (10 mL) y se agitó durante 3 horas para efectuar la ciclación. Al cabo de 3 horas, la
 5 mezcla de reacción se basificó con NaHCO₃ sólido a pH 10. La capa acuosa se extrajo con cloroformo (25 x 3 mL) y se lavó con agua (25 mL) y salmuera (25 mL). La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se concentró a presión reducida y se secó sobre vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna con un 3% de metanol en cloroformo y un 0.1% de amoníaco como eluyente para producir el compuesto, (+)-
 10 *trans*-2-(2,4-dibromofenil)-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona como un sólido amarillo.

Rendimiento: 0.6 g (58%);

¹ H NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 7.81 (s, 1 H), 7.59 (d, 1H), 7.51 (dd, 1H), 6.48 (s, 1 H), 6.44 (s, 1 H), 4.21 (m, 1 H), 4.03 (s, 3H), 4.01 (s, 3H), 3.73 (m, 1 H), 3.50 (m, 1 H),
 15 3.33 (m, 1 H), 2.99 (m, 1 H), 2.66 (m, 1 H), 2.50 (s, 3H), 2.15 (m, 2H); EM (ES +): 554 (M +1).

Ejemplo 65 (Ejemplo Comparativo):

(+)-*trans*-2-(2,4-dibromofenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metil pirrolidin-3-il)-
 20 cromen-4-ona

Una mezcla del compuesto del Ejemplo (64) (0.6 g, 1.08 mmol), clorhidrato de piridina (0.6 g, 5.19 mmol) y una cantidad catalítica de quinolina se calentó a 180 °C durante un período de 2.5 horas. La mezcla de reacción se diluyó con metanol (50 mL) y se

basificó con Na₂CO₃ sólido hasta pH 10. La mezcla de reacción se filtró, y se lavó con metanol. La capa orgánica se concentró y el residuo se purificó por cromatografía en columna usando 0.1% de amoníaco y % de metanol en cloroformo como eluyente para dar el compuesto del título como un sólido amarillo.

5 Rendimiento: 0.2 g (22%); MS (ES +): 526 (M +1).

Ejemplo 66 (Ejemplo Comparativo):

(+)-*trans*-2-(2,4-dibromofenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metil pirrolidin-3-il)-cromen-4-ona clorhidrato

10

El compuesto del ejemplo (65) (25 mg, 0.047 mmol) suspendido en metanol (2 mL) y tratado con HCl etéreo y el disolvente orgánico se evaporaron para obtener la sal, (+)-*trans*-2-(2,4-dibromofenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona clorhidrato.

15 Rendimiento: 25 mg (93.5%);

¹ H NMR (CD₃OD, 300 MHz): δ 7.95 (m, 1 H), 7.73 (m, 2H), 6.52 (s, 1 H), 6.38 (s, 1 H), 3.90 (m, 1 H), 3.85 (m, 2H), 3.60 (m, 2H), 3.4 (m, 1 H), 2.97 (s, 3H), 2.53 (M, 1 H), 2.28 (m, 1 H);

MS (ES-): 560 (MI) ⁺

20

Ejemplo 67 (Preparación de Producto Intermedio):

(+)-*trans*-2-bromo-4- ácido clorobenzoico 2 - (2-acetoximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-6-acetil-3,5-dimetoxifenil éster

- 5 Una mezcla del compuesto del ejemplo (6) (1.12 g, 3.2 mmoles), 2-bromo-4- ácido clorobenzoico (0.9 g, 3.8 mmoles), DCC (1.32 g, 6.4 mmol) y DMAP (0.4 g, 3.2 mmol) se disolvió en diclorometano (25 mL) y se agitó a temperatura ambiente durante 12 horas. La mezcla de reacción se enfrió a 0 °C, la dicitclohexilurea precipitada se filtró y la capa orgánica se concentró y el residuo se purificó por cromatografía en columna con
10 un 1% de metanol en cloroformo y un 0.1% de amoníaco como eluyente para dar el compuesto del título, (+)-*trans*-2-bromo-4- ácido clorobenzoico 2-(2-acetoximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-6-acetil-3,5-dimetoxi-fenil éster.

Rendimiento: 0.6 g (33%);

MS (ES +): 569 (M +1).

15

Ejemplo 68 (Ejemplo Comparativo):

(+)-*trans*-2-(2-bromo-4-clorofenil)-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona

- 20 A una solución de n-BuLi (15% en hexano, 0.9 mL, 2 mmol) en THF (10 mL), mantenida a 0 °C bajo atmósfera de nitrógeno, se añadió hexametildisilazano (0.44 mL, 2 mmol) gota a gota y se agitó durante 15 min. A ésta se le añadió una solución del compuesto del Ejemplo (67) (0.6 g, 1 mmol) en THF (10 mL) gota a gota, manteniendo

la temperatura a 0 °C. Después de la adición, la reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 2.5 horas. La mezcla de reacción se acidificó con HCl diluido, y se basificó con un 10% de bicarbonato de sodio a un pH de 8 a 9. La capa acuosa se extrajo con cloroformo (3 x 25 mL). La capa orgánica se lavó con agua (25 mL), salmuera (25 mL) y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. La capa orgánica se concentró a presión reducida y se secó al vacío para producir ácido acético 3-{3-[3-(2-bromo-4-clorofenil)-3-oxopropionil]-2-hidroxi-4,6-dimetoxifenil}-1-metil-pirrolidin-2-ilmetil éster como un sólido marrón (1.2 g). Este éster se disolvió en HCl conc. (10 mL) y se agitó durante 3 horas para efectuar la ciclación. Al cabo de 3 horas, la mezcla de reacción se basificó con NaHCO₃ sólido a pH 8 a 9. La capa acuosa se extrajo con cloroformo (25 x 3 mL) y se lavó con agua (25 mL) y salmuera (25 mL). La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se concentró a presión reducida y se secó sobre vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna con un 3% de metanol en cloroformo y un 0.1% de amoníaco como eluyente para producir el compuesto, (+)-*trans*-2-(2-bromo-4-cloro fenil)-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-5,7- dimetoxi-cromen-4-ona como un sólido de color amarillo.

Rendimiento: 0.3 g (53.6%);

MS (ES +): 509 (M +1).

20 Ejemplo 69 (Ejemplo Comparativo):

(+)-*trans*-2-(2-bromo-4-clorofenil) -5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1 - metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona

Una mezcla del compuesto del Ejemplo (68) (0.3 g, 0.59 mmol), clorhidrato de piridina (0.3 g, 2.6 mmol) y una cantidad catalítica de quinolina se calentó a 180 °C durante un período de 2.5 horas. La mezcla de reacción se diluyó con metanol (25 mL) y se basificó con Na₂CO₃ sólido hasta pH 10. La mezcla de reacción se filtró, y se lavó con metanol. La capa orgánica se concentró y el residuo se purificó por cromatografía en columna utilizando un 0.1% de amoníaco y un 3% de metanol en cloroformo como eluyente para producir el compuesto, (+)-*trans*-2-(2-bromo-4-clorofenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metil pirrolidin-3-il)-cromen-4-ona, como un sólido de color amarillo.

10 Rendimiento: 0.04 g (14%);

MS (ES +): 481 (M +1).

Ejemplo 70 (Ejemplo Comparativo):

(+)-*trans*-2-(2-bromo-4-clorofenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona clorhidrato

15

El compuesto del ejemplo (69) (34 mg, 0.07 mmol) se suspendió en metanol (2 mL) y se trató con HCl etéreo y el disolvente orgánico se evaporó para obtener la sal, (+)-*trans*-2-(2-bromo-4-clorofenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona clorhidrato.

20

Rendimiento: 34 mg (93%);

¹ H NMR (CD₃OD, 300 MHz): δ 7.98 (m, 1 H), 7.8 (m, 2H), 6.5 (s, 1 H), 6.37 (s, 1 H), 4.17 (m, 1 H), 3.88 (m, 2H), 3.59 (m, 2H), 3.43 (m, 1 H), 3.00 (s, 3H), 2.49 (m, 1 H), 2.28 (m, 1 H);

MS (ES⁻): 515 (M-1).

5

Ejemplo 71 (Ejemplo Comparativo) :

(±)-*trans*-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-2-(2-metoxifenil)
cromen-4-ona

- 10 A una suspensión de hidruro de sodio al 50% en aceite mineral (1.39 g, 29.1 mmoles) en N, N-dimetilformamida (60 mL) mantenido bajo atmósfera de nitrógeno y enfriado a 0 °C, se añadió (±)-*trans*-1-[2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-4,6-dimetoxifenil]-etanona (3 g, 9.7 mmol) en porciones y se agitó durante 15 minutos. Al cabo de 15 minutos, se añadió metilbenzoato de metilo 2-metoxi (4.8 g, 29 mmol) gota a gota y la reacción se agitó a 0 °C durante 1 h. El exceso de hidruro de sodio se destruyó mediante la adición cuidadosa de metanol. La mezcla de reacción se acidificó con HCl diluido, y se basificó con un 10% de bicarbonato de sodio a pH 9. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida y se secó al vacío para producir 1-[2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-4,6-dimetoxifenil]-3-(2-metoxifenil)-propano-1,3-diona en forma de un aceite (1.4 g). Esta β-dicetona se disolvió en HCl conc. (50 mL) y se agitó durante 3 horas para efectuar la ciclación. Al cabo de 3 horas, la mezcla de reacción se basificó con NaHCO₃ sólido a pH 10. La capa acuosa se extrajo con cloroformo (50 x 3 mL) y se lavó con agua (25 mL) y salmuera (25 mL). La
- 15
- 20

capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se concentró a presión reducida y se secó sobre vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna con un 3% de metanol en cloroformo y un 0.1% de amoníaco como eluyente para producir el compuesto, (±)-*trans*-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-2-(2-metoxifenil)-cromen-4-ona.

Rendimiento: 1.4 g (34%);

¹ H NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 7.97 (d, 1H), 7.44 (t, 1H), 7.09 (t, 1H), 7.01 (d, 1H), 6.91 (s, 1 H), 6.43 (s, 1 H), 4.27 (m, 1 H), 4.00 (s, 3H), 3.96 (s, 3H), 3.90 (s, 3H), 3.70 (dd, 1H), 3.42 (d, 1 H), 3.23 (m, 1 H), 2.72 (m, 2H), 2.41 (s, 3H), 2.08 (M, 2H);

MS (ES +): 426 (M +1).

Ejemplo 72 (Ejemplo Comparativo):

(±)-*trans*-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-2-(2-hidroxifenil) cromen-4-ona (Compuesto-1)

(±)-*trans*-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-2-(2-metoxifenil) cromen-4-ona (Compuesto-2)

(±)-*trans*-5-Hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-7-metoxi-2-(2-metoxifenil) cromen-4-ona (Compuesto- 3)

Una mezcla del compuesto del Ejemplo (71) (70 mg, 0.165 mmol), y clorhidrato de piridina (700 mg, 6.09 mmol) se calentó a 180 °C durante un período de 2.5 horas. La mezcla de reacción se diluyó con metanol (50 mL) y se basificó con Na₂CO₃ sólido hasta pH 10. La mezcla de reacción se filtró, y se lavó con metanol. La capa orgánica se

concentró y el residuo se purificó por cromatografía en columna usando un 0.1% de amoníaco y un 3% de metanol en cloroformo como eluyente para dar los compuestos, ($\pm$)-*trans*-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-2-(2-hidroxifenil)-cromen-4-ona (Compuesto-1), ($\pm$)-*trans*-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-2-(2-metoxifenil)-cromen-4-ona (Compuesto-2), y ($\pm$)-*trans*-5-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-7-metoxi-2-(2-metoxifenil)-cromen-4-ona (Compuesto-3).

(Compuesto-1): Rendimiento: 17 mg (27%);

¹ H NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 7.90 (dd, 1H), 7.36 (m, 1 H), 7.00 (s, 1 H), 6.96 (m, 2H), 6.18 (s, 1 H), 4.20 (m, 1 H), 3.79 (dd, 1H), 3.65 (dd, 1H), 3.55 (m, 1 H), 3.45 (m, 2H), 2.81 (s, 3H), 2.34 (m, 2H);

MS (ES +): 384 (M +1).

(Compuesto-2): Rendimiento: 20 mg (30%);

¹ H NMR (CDCl₃, 300 MHz): 512.77 (s, 1 H), 7.82 (dd, 1H), 7.44 (m, 1 H), 7.05 (m, 2H), 6.88 (s, 1 H), 6.27 (s, 1 H), 4.20 (m, 1 H), 3.95 (m, 1 H), 3.91 (s, 3H), 3.80 (m, 1 H), 3.30 (m, 2H), 2.84 (m, 1 H), 2.67 (s, 3H), 2.50 (m, 1 H), 2.12 (m, 1 H);

MS (ES +): 398 (M +1).

(Compuesto-3): Rendimiento: 12 mg (18%);

¹ H NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 13.12 (s, 1 H), 8.03 (m, 1 H), 7.48 (m, 1 H), 7.11 (m, 1 H), 7.02 (m, 1 H), 6.99 (s, 1 H), 6.42 (s, 1 H), 4.21 (m, 1 H), 3.93 (s, 3H), 3.91 (s, 3H), 3.58 (m, 2H), 3.11 (m, 1 H), 2.70 (m, 2H), 2.39 (s, 3H), 2.05 (m, 2H);

MS (ES +): 412 (M +1).

Ejemplo 73 (Ejemplo Comparativo):

(±)-*trans*-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-2-(2-hidroxifenil)
cromen-4-ona clorhidrato

- 5 El compuesto-1 del Ejemplo 72 (15 mg, 0.039 mmol) se suspendió en metanol (2 mL) y se trató con HCl etéreo y el disolvente orgánico se evaporó para obtener la sal, (±)-*trans*-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-2-(2-hidroxifenil)-cromen-4-ona clorhidrato.

Rendimiento: 14 mg (85%);

- 10 ¹ H NMR (CD₃OD, 300 MHz): δ 7.97 (dd, 1H), 7.38 (m, 1 H), 7.11 (s, 1 H), 7.00 (m, 2H), 6.34 (s, 1 H), 4.42 (m, 1 H), 3.90 (m, 2H), 3.79 (m, 1 H), 3.63 (dd, 1H), 3.49 (m, 1 H), 3.01 (s, 3H), 2.58 (m, 1 H), 2.36 (m, 1 H);

MS (ES +): 420 (M + I) ⁺

- 15 Ejemplo 74 (Ejemplo Comparativo):

(+) Ácido acético 3 -1-[2-(2-clorofenil)-8-il-cromen-5,7-dihidroxi-4-oxo-4H]
metilpirrolidin-2-ilmetil éster

- El compuesto del ejemplo (9) (2 g, 5 mmol) se agitó en diclorometano seco (40 mL) con anhídrido acético (2.50 mL, 26.4 mmol) y una cantidad catalítica de
20 dimetilaminopiridina a 25 °C. Al cabo de 1 h. se añadió solución de carbonato de sodio saturado (30 mL) a la mezcla de reacción y se agitó durante 15 min. La capa orgánica se separó y la capa acuosa se extrajo con CHCl₃ (3 x 50 mL). La capa orgánica combinada se concentró y el producto obtenido se purificó usando una columna de gel de sílice y

metanol al 3% en CHCl_3 + 1% de licor de NH_3 como eluyente para obtener el compuesto, (+) ácido acético 3-[2-(2-clorofenil)-5,7-dihidroxi-4-oxo-4H-cromen-8-il]-1-metilpirrolidin-2-ilmetil éster

Rendimiento: 1.3 g (60%);

5 IR (KBr): 3421, 3069, 2953, 1742, 1659 cm^{-1} ;

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz): δ 12.60 (s, 1 H), 7.54 (m, 2H), 7.45 (m, 2H), 6.44 (s, 1 H), 6.31 (s, 1 H), 4.30 (m, 1 H), 4.20 (m, 1 H), 4.02 (m, 1 H), 3.42 (t, 1H), 3.32 (t, 1H), 2.77 (m, 1 H), 2.62 (s, 3H), 2.43 (m, 1 H), 2.00 (m, 1 H), 1.90 (s, 3H).

10 Ejemplo 75 (Ejemplo Comparativo):

(+) Ácido acético 3-[2-(2-clorofenil)-5,7-dihidroxi-4-oxo-4H-cromen-8-il]-1-metilpirrolidin-2-ilmetil éster clorhidrato

El compuesto del Ejemplo (74) (0.2 g, 0.38 mmol) se suspendió en IPA (5 mL) y se
 15 añadió 3.5% de HCl (25 mL). La suspensión se calentó para obtener una solución clara. La solución se enfrió y se filtró el sólido para obtener el compuesto del título, (+) Ácido acético 3-[2-(2-clorofenil)-5,7-dihidroxi-4-oxo-4H-cromen-8-il]-1-metilpirrolidin-2-ilmetil éster clorhidrato

Rendimiento: 1.00 g (93%); MS (ES +): m/z 444 (M +1), base libre.

Ejemplo 76 (Ejemplo Comparativo):

(+)-*trans* ácido acético 8-(2-acetoximetilpirrolidin-3-il)-2-(2-clorofenil)-5-hidroxi-4-oxo-4H-cromen-7-il éster

- 5 Una solución del compuesto del Ejemplo (10) (10 g, 22 mmol) en piridina (100 mL) se enfrió a 0 °C. Se añadió cloruro de acetilo (5,7 mL, 80 mmol) gota a gota y la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente, seguido por calentamiento a reflujo durante 12 horas. La mezcla se concentró a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía en columna usando un 5% de metanol en cloroformo como eluyente para
10 dar el compuesto del título, (+)-*trans* ácido acético 8-(2-acetoximetilpirrolidin-3-il)-2-(2-clorofenil)-hidroxi-4-oxo-4H-cromen-7-il éster.

Rendimiento: 5 g (45%);

- ¹ H NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 7.54 (d, 1H), 7.44 (m, 3H), 6.53 (s, 1 H), 6.44 (s, 1 H), 4.35 (m, 1 H), 4.17 (m, 2H), 3.48 (m, 1 H), 3.35 (m, 1 H), 2.79 (m, 1 H), 2.62 (s, 3H),
15 2.44 (m, 1 H), 2.42 (s, 3H), 1.92 (m, 1 H), 2.0 (s, 3H);

MS (ES +): m/z 486 (M +1).

Ejemplo 77 (Ejemplo Comparativo):

- (+)-*trans*- ácido benzoico 8-(2-benzoiloximetilpirrolidin-3-il)-2-(2-clorofenil)-5-
20 hidroxi-4-oxo-4H-cromen-7-il éster

Una solución del compuesto del Ejemplo (10) (0.5 g, 1.1 mmol) en piridina (3 mL) se enfrió a 0 °C. Se añadió cloruro de benzoilo (1 mL, 8.62 mmol) gota a gota y la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente, seguido por un calentamiento a reflujo durante 12 horas. La mezcla se concentró a presión reducida y el residuo se purificó por

5 cromatografía en columna usando un 5% de metanol en cloroformo como el eluyente para dar el compuesto, (+)-*trans*- ácido benzoico 8-(2-benzoiloximetilpirrolidin-3-il)-2-(2-cloro fenil)-5-hidroxi-4-oxo-4H-cromen-7-il éster

Rendimiento: 0.2 g (28%);

¹ H NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 8.25 (m, 1 H), 8.09 (m, 1 H), 7.91 (m, 1 H), 7.50 (m, 11

10 H), 6.68 (s, 1 H), 6.34 (s, 1 H), 4.55 (m, 2H), 4.32 (dd, 1H), 3.69 (m, 1 H), 3.40 (m, 1 H), 2.90 (m, 1 H), 2.72 (s, 3H), 2.58 (m, 1 H), 2.12 (m, 1 H);

MS (ES +): m/z 610 (M +1).

Ejemplo 78 (Ejemplo Comparativo):

15 (+)-*trans* ácido benzoico 8-(2-benzoiloximetilpirrolidin-3-il)-2-(2-clorofenil)-5-hidroxi-cromen-4-oxo-4H-7-il éster clorhidrato

El compuesto del ejemplo (77) (0.2 g, 0.328 mmol) se suspendió en metanol (2 mL) y se trató con HCl etéreo y el disolvente orgánico se evaporó para obtener la sal, (+)-

20 *trans*- ácido benzoico 8-(2-benzoiloximetil pirrolidin-3-il)-2-(2-clorofenil)-5-hidroxi-4-oxo-cromen-4H-7-il éster clorhidrato.

Rendimiento: 0.2 g (94.5%);

¹ H NMR (CD₃OD, 300 MHz): δ 8.2 (m, 1 H), 8.02 (m, 1 H), 7.81 (m, 1 H), 7.49 (m, 11 H), 6.85 (s, 1 H), 6.29 (s, 1 H), 4.69 (m, 1 H), 4.5 (m, 3H), 3.89 (m, 1 H), 3.62 (m, 1 H), 3.12 (s, 3H), 2.74 (m, 1 H), 2.48 (m, 1 H);

MS (ES +): m/z 610 (M +1), base libre.

5

Ejemplo 79 (Ejemplo Comparativo):

(+)-*trans*- ácido octanóico 2 -(2-clorofenil)-5-hidroxi-8-(1-metil-2-octanoiloximetilpirrolidin-3-il)-4-oxo-4H-cromen -7-il éster

- 10 Una solución del compuesto (10) (0.5 g, 1.2 mmol) en piridina (3 mL) se enfrió a 0 °C. Se añadió cloruro de octanoílo gota a gota, preparado por calentamiento a reflujo de ácido octanoico (0.41 mL, 3.12 mmol) en cloruro de tionilo (1 mL) durante 30 minutos, seguido de evaporación a sequedad, y la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente, seguido por calentamiento a reflujo durante 12 horas. La mezcla se concentró
- 15 a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía en columna usando un 5% de metanol en cloroformo como el eluyente para dar el compuesto del título.

Rendimiento: 0.2 g (30.5%);

- ¹ H NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 12.60 (s, 1 H), 7.55 (m, 4H), 6.44 (s, 1 H), 6.31 (s, 1 H), 4.31 (m, 1 H), 4.18 (m, 1 H), 4.03 (m, 1 H), 3.42 (m, 1 H), 3.32 (m, 1 H), 2.76 (m, 1 H), 2.62 (s, 3H), 2.45 (m, 1 H), 2.34 (t, 2H), 2.17 (m, 2H), 1.95 (m, 1 H), 1.63 (m, 2H),
- 20 1.48 (m, 2H), 1.27 (m, 16H) , 0.86 (m, 6H).

Ejemplo 80 (Ejemplo Comparativo):

(+)-*trans*- ácido acético 3 -[2-(2-clorofenil)-5-hidroxi-7-metoxi-4-oxo-4H-cromen-8-il]
-1-metilpirrolidin-2-ilmetil éster

5 A una solución del compuesto del ejemplo (8) (2.0 g, 4.65 mmol) y dimetilaminopiridina (10 mg) en diclorometano (20 mL), se añadió anhídrido acético (0.48 mL, 5.07 mmol) gota a gota y la mezcla de reacción se agitó durante 15 minutos. Al cabo de 15 minutos, la mezcla de reacción se diluyó con cloroformo (20 mL), la capa orgánica se lavó con NaHCO₃ al 10%, agua (10 mL) y salmuera (10 mL). La capa
10 orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se disolvió en diclorometano (20 mL), seguido por la adición de trifluoruro de boro dietil eterato (1.72 mL, 13.9 mmol) y sulfuro de dimetilo (1.1 mL, 14 mmoles) y se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla de reacción se vertió en hielo, se basificó con Na₂CO₃ al 10% y se extrajo con cloroformo (2 x 50 mL). Las capas orgánicas se
15 combinaron, se lavaron con agua (10 mL), salmuera (10 mL), se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna usando 20% de éter de petróleo en cloroformo y 0.1% de amoníaco como eluyente para dar el compuesto, (+)-*trans*- ácido acético 3 -[2-(2-clorofenil)-5-hidroxi-7-metoxi-4-oxo-4H-cromen-8-il]-1-metilpirrolidin-2-ilmetil éster

20 Rendimiento: 1.22 g (58%);

¹ H NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 12.88 (s, 1 H), 7.50 (m, 4H), 6.47 (s, 1 H), 6.44 (s, 1 H), 4.04 (m, 2H), 3.95 (m, 1 H), 3.90 (s, 3H), 3.13 (m, 1 H), 2.74 (m, 1 H), 2.50 (m, 1 H), 2.36 (s, 3H), 2.13 (m, 1 H), 1.95 (m, 1 H), 1.72 (s, 3H);

MS (ES +): m/z 458 (M +1).

Ejemplo 81 (Ejemplo Comparativo):

(+)-*trans*-2-(2-clorofenil)-5-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-7-metoxi-
5 cromen-4-ona

Método A

El compuesto del Ejemplo (80) (1.4 g, 3.0 mmol) se disolvió en metanol (6 mL) al cual se añadió la solución acuosa de NaOH al 2% (6 mL) y la mezcla se calentó con
10 agitación a 50 - 60 °C durante 1 h. Al final de este período, la mezcla se acidificó con HCl diluido seguido por basificación con solución de Na₂CO₃ al 10% a pH 9. La mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 25 mL) y las capas orgánicas se lavaron con agua (10 mL), salmuera (10 mL), se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se concentraron a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía en columna usando 1% de iso-propanol en
15 cloroformo y 0.1% de amoníaco como eluyente para dar el compuesto, (+)-*trans*-2-(2-clorofenil)-5-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-7-metoxi-cromen-4-ona.

Rendimiento: 1.2 g (97%);

IR (KBr): 3446, 1656, 1608 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 12.90 (s, 1 H), 7.74 (m, 1 H), 7.48 (m, 3H), 6.57 (s, 1 H), 6.44 (s, 1 H), 4.11 (m, 1 H), 3.91 (s, 3H), 3.63 (dd,
20 1H), 3.36 (d, 1 H), 3.14 (m, 1 H), 2.72 (m, 1 H), 2.55 (m, 1 H), 2.33 (s, 3H), 2.01 (m, 2H);

MS (ES +): m/z 416 (M + 1) ⁺.

Método B

El compuesto del ejemplo (8) (0.1 g, 0.23 mmol) se trató con HBr (5 mL, 47%) a 100 °C durante 3.5 h. La mezcla de reacción se vertió sobre hielo, se basificó con solución de Na₂CO₃ (10%, 40 mL), se extrajo con acetato de etilo y se concentró. El producto
 5 obtenido se purificó por cromatografía en columna y un 5% de metanol + 1% de licor de NH₃ en CHCl₃ como eluyente para obtener el compuesto del título.

Rendimiento: 0.085 g (84%);

¹ H NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 12.90 (s, 1 H), 7.74 (m, 1 H), 7.48 (m, 3H), 6.57 (s, 1 H), 6.44 (s, 1 H) , 4.11 (m, 1 H), 3.91 (s, 3H), 3.63 (dd, 1H), 3.36 (d, 1H), 3.14 (m, 1
 10 H), 2.72 (m, 1 H), 2.55 (m, 1 H), 2.33 (s, 3H), 2.01 (m, 2H); MS (ES +): m/z 416 (M +1).

Ejemplo 82 (Ejemplo Comparativo):

(+)-*trans*-2-(2-clorofenil)-5-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-7-metoxi-
 15 cromen-4-ona clorhidrato

El compuesto del ejemplo (81) (50 mg, 0.11 moles) se suspendió en metanol (2 mL) y se trató con HCl etéreo y el disolvente orgánico se evaporó para obtener la sal, (+)-*trans*-2-(2-clorofenil)-5-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-7-metoxi-
 20 cromen-4-ona clorhidrato.

Rendimiento: 53 mg (100%);

IR (KBr): 3297, 1663, 1608, 1581 cm⁻¹; ¹ H NMR (CD₃OD, 300 MHz): δ 8.12 (d, 1H), 7.91 (m, 3H), 6.96 (s, 1 H), 6.89 (s, 1 H), 4.62 (m, 1 H), 4.34 (s, 3H), 4.17 (m, 2H), 4.03

(m, 1 H), 3.90 (m, 1 H), 3.71 (m, 1 H), 3.31 (s, 3H), 2.75 (m, 1 H), 2.62 (m, 1 H), MS
(ES +): m/z 416 (M-36.5); $[\alpha]_D^{25}$: + 15.32 ° (c = 0.27, metanol).

Ejemplo 83 (Ejemplo Comparativo):

- 5 (+)-*trans*-2-(2-clorofenil)-5-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-7-
metoxi-4-ona gluconato

El compuesto del ejemplo (81) (50 mg, 0.12 mmol) se suspendió en metanol (1 mL) y
agua (1 mL) y se agitó. A éste se le añadió ácido glucónico (24 mg, 0.12 mmoles), se
10 agitó y la solución se evaporó a sequedad para obtener la sal, (+)-*trans*-2-(2-clorofenil)-
5-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metil pirrolidin-3-il-cromen)-7-metoxi-4-ona gluconato

Rendimiento: 74 mg (100%); IR (KBr): 3445, 1654, 1609 cm^{-1} ; ^1H NMR (CD_3OD , 300
MHz): δ 7.80 (d, 1H), 7.59 (m, 3H), 6.64 (s, 1 H), 6.57 (s, 1 H), 4.27 (m, 1 H), 4.07 (m,
2H), 4.02 (s, 3H), 3.76 (m, 7H), 2.92 (s, 3H), 2.33 (m, 2H); $[\alpha]_D^{25}$: 18,17° (c = 0.73,
15 metanol)

Ejemplo 84 (Ejemplo Comparativo):

(+)-*trans*-ácido acético-3-[2-(2-clorofenil)-5,7-cromen-dihidroxi-4-oxo-4H-8-il]-1
metilpirrolidin-2-ilmetil éster.

20

A una solución del compuesto del Ejemplo (10) (1 g, 2.28 mmol) y trietilamina (1.6
mL, 11.4 mmol) en cloruro de metileno (10 mL), se añadió anhídrido acético (0.7 mL,

7.4 mmol) y se agitó durante 30 min. a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se inactivó con solución saturada de carbonato sódico (10 mL) y se agitó durante 30 min. La capa orgánica se separó, se lavó con carbonato de sodio acuoso (10 mL), agua (10 mL), se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se evaporó a presión reducida para
 5 obtener el compuesto, (+)-*trans*-ácido acético-3-[2-(2-clorofenil)-5,7-dihidroxi-4-oxo-4H-cromen-8-il]-1-metilpirrolidin-2-ilmetilo éster, que se usó como tal sin purificación adicional.

Rendimiento: 1.1 g (99%);

¹ H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 12.59 (s, 1 H), 7.45 (m, 4H), 6.44 (s, 1 H), 6.31 (s, 1 H),
 10 4.32 (m, 1 H), 4.19 (m, 1 H), 4.05 (m, 1 H), 3.44 (m, 1 H), 3.30 (m, 1 H), 2.79 (m, 1 H), 2.62 (s, 3H), 2.42 (m, 1 H), 1.98 (m, 1 H), 1.92 (s, 3H); MS (ES +): 444 (M +1).

Ejemplo 85 (Ejemplo Comparativo):

(+)*trans*- ácido acético 3-[2-(2-clorofenil)-5-hidroxi-7-(metoxi 2-metoxietoxi)-4-oxo-
 15 4H-cromen 8-il]-1-metilpirrolidin-2-ilmetil éster

El compuesto del ejemplo (84) ((1.11 g, 2.50 mmol) se disolvió en DMF seca (15 mL) bajo atmósfera de nitrógeno y se enfrió a 0 °C. Se añadió hidruro sódico (50%, 0.14 g, 2.9 mmol) y la mezcla se agitó durante 30 min. Se añadió gota a gota y la reacción se mantuvo a 10 °C durante la noche una solución de cloruro de 2-metoxietoximetilo (0.33
 20 mL, 2.9 mmol) en DMF seca. La reacción se vertió en agua con hielo (10 mL), se acidificó con ácido acético a pH 5, se basificó con Na₂CO₃ acuoso (pH 9), y se extrajo con acetato de etilo (2 x 25 mL). La capa orgánica se separó, se lavó con agua (15 mL), salmuera (15 mL), se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró a presión

reducida hasta sequedad para producir el compuesto, (+) *trans*- ácido acético 3-[2-(2-clorofenil)-5-hidroxi-7-(2-metoxietoximetoxi)-4-oxo-4H-cromen-8-il-]-1-metilpirrolidin-2-ilmetil éster

5 Rendimiento: 1.1 g (92%) ;

¹ H NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 12.78 (s, 1 H), 7.56 (m, 4H), 6.68 (s, 1 H), 6.48 (s, 1 H), 5.39 (s, 2H), 4.20 (m, 2H), 4.05 (m, 1 H), 3.83 (m, 2H), 3.58 (m, 2H), 3.38 (s, 3H), 2.56 (m, 3H), 2.16 (s, 3H), 1.81 (s, 3H), 1.62 (m, 2H);

MS (ES +): 532 (M +1).

10

Ejemplo 86 (Ejemplo Comparativo):

(+)-*trans*-2-(2-clorofenil)-5-hidroxi-8-(2-hidroximetil)-1-metilpirrolidin-3-il)-7-(2-metoxietoximetoxi)-cromen-4-ona

15 El compuesto del Ejemplo (85) (1.1 g, 2.07 mmol) se disolvió en 15 mL de solución al 1% de hidróxido de sodio en 1: 1 mezcla de metanol y agua y se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. Al cabo de 1 hora, la mezcla de reacción se diluyó con agua con hielo, se acidificó con ácido acético (pH 5), se basificó con Na₂CO₃ acuosa (pH 9), y se extrajo con acetato de etilo (2 x 25 mL). La capa orgánica se separó, se lavó con agua
20 (15 mL), salmuera (15 mL), se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna usando 1% de isopropanol en cloroformo y 0.1% de amoníaco como eluyente para dar el compuesto

del título, (+)-*trans*-2-(2-clorofenil)-5-hidroxi-8-(2-hidroximetil)-1-metil pirrolidin-3-il)
-7-(2-metoxietoximetoxi)-cromen-4-ona

Rendimiento: 0.43 g (38.7%);

¹ H NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 12.84 (s, 1 H), 7.73 (d, 1H), 7.50 (m, 3H), 6.62 (s, 1 H),
5 6.57 (s, 1 H), 5.41 (s, 2H), 4.30 (q, 1 H), 3.85 (m, 3H), 3.59 (m, 4H), 3.37 (m, 1 H),
3.35 (s, 3H), 2.96 (m, 1 H), 2.72 (s, 3H), 2.39 (m, 1 H), 2.24 (m, 1 H);

MS (ES +): 490 (M + 1).

Ejemplo 87 (Ejemplo Comparativo):

10 (+)-*trans*-2-(2-clorofenil)-5-hidroxi-8-(2-hidroximetil)-1-metilpirrolidin-3-il)-7-(2-
metoxietoximetoxi)-cromen-4-ona gluconato

A una solución del compuesto del Ejemplo (86) (0.55 g, 1.12 mmol) en metanol (5 mL),
se añadió (+)- ácido glucónico (0.22 g, 1.12 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura
15 ambiente durante 30 min. El disolvente se eliminó a presión reducida para obtener la
sal, (+)-*trans*-2-(2-clorofenil)-5-hidroxi-8-(2 - hidroximetil)-1-metilpirrolidin-3-il) -7 -
(2-metoxietoximetoxi)-cromen-4-ona gluconato.

Rendimiento: 0.77 g (100%);

IR (KBr): 3385, 1656, 1606 cm⁻¹; ¹ H NMR (CD₃OD, 300 MHz): δ 7.62 (d, 1H), 7.54
20 (m, 3H), 6.74 (s, 1 H), 6.57 (s, 1 H), 5.49 (s, 2H), 4.29 (m, 1 H), 4.07 (s, 2H), 3.76 (m,
13 H), 3.34 (s, 3H), 2.90 (s, 3H), 2.38 (m, 2H),

MS (ES +): 490 (M + I)⁺, base libre;

$[\alpha]_D^{25}$: 15.33° (c = 0.6, metanol).

Ejemplo 88:

(+)-*trans*-2-(2-clorofenil)-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-
5 cromen-4-ona

El compuesto del ejemplo (8) (50 mg, 0.116 mmol) se suspendió en metanol (2 mL) y se agitó. A éste se le añadió HCl etéreo y la solución se agitó y se evaporó para obtener la sal, (+)-*trans*-2-(2-clorofenil)-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-
10 cromen-4-ona.

Rendimiento: 50 mg (93%);

IR (KBr): 3421, 1647, 1599, 1471 cm^{-1} ;

^1H NMR (CD_3OD , 300 MHz): δ 7.95 (d, 1H), 7.56 (m, 3H), 6.76 (s, 1 H), 6.47 (s, 1 H), 4.36 (m, 1 H), 3.95 (s, 3H), 3.85 (s, 3H), 3.82 (m, 2H), 3.68 (m, 2H), 3.35 (m, 1
15 H), 2.99 (s, 3H), 2.36 (m, 2H);

MS (ES +): m/z 430 (M + 1), base libre;

α_D^{25} : 3.76 ° (c = 0.28, metanol)

Ejemplo 89 (Ejemplo Comparativo):

20 (+)-*trans*-2-(2-clorofenil)-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-
cromen-4-ona citrato

El compuesto del ejemplo (8) (50 mg, 0.116 mmol) se suspendió en metanol (2 mL) y se agitó. Para ello se añadió ácido cítrico (23 mg, 0.12 mmol) y la solución se agitó y se evaporó para obtener la sal del título, (+)-*trans*-2-(2-cloro-fenil)-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona citrato.

5 Rendimiento: 73 mg (100%);

¹ H NMR (CD₃OD, 300 MHz): δ 7.79 (d, 1H), 7.57 (m, 3H), 6.77 (s, 1 H), 6.48 (s, 1 H), 4.35 (m, 1 H), 4.10 (s, 3H), 4.02 (s, 3H), 3.98 (m, 2H), 3.69 (m, 2H), 3.31 (m, 1 H), 3.01 (s, 3H), 2.76 (m, 4H), 2.29 (m, 2H).

10 Ejemplo 90 (Ejemplo Comparativo):

(+)-*trans*-2-(2-clorofenil)-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona tartrato

El compuesto del ejemplo (8) (50 mg, 0.116 mmol) se suspendió en metanol (2 mL) y se agitó. A éste se le añadió ácido tartárico (17 mg, 0.113 mmol) y la solución se agitó y

15 se evaporó para obtener la sal, (+)-*trans*-2-(2-clorofenil)-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona tartrato.

Rendimiento: 7 mg (100%);

¹ H NMR (CD₃OD, 300 MHz): δ 7.76 (d, 1H), 7.57 (m, 3H), 6.75 (s, 1 H), 6.46 (s, 1 H), 4.22 (m, 1 H), 4.08 (s, 3H), 4.01 (s, 3H), 3.77 (m, 1 H), 3.49 (m, 3H), 3.31 (m, 2H),
20 3.05 (m, 1 H), 2.78 (s, 3H), 2.26 (m, 2H);

MS (ES +): m/z 430 (M), base libre; [α]_D²⁵: 5.35 ° (c = 0.21, metanol)

Ejemplo 91 (Ejemplo Comparativo):

(+)-*trans*-2-(2-clorofenil)-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona glutamato

- 5 El compuesto del ejemplo (8) (50 mg, 0.116 mmol) se suspendió en metanol (2 mL) y se agitó. A éste se le añadió ácido glutámico (17 mg, 0.115 mmol) y la solución se agitó y se evaporó para obtener la sal, (+)-*trans*-2-(2-clorofenil)-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona glutamato.

Rendimiento: 67 mg (100%);

- 10 ¹ H NMR (CD₃OD, 300 MHz): δ 7.79 (d, 1H), 7.57 (m, 3H), 6.77 (s, 1 H), 6.48 (s, 1 H), 4.41 (m, 4H), 4.10 (s, 3H), 4.02 (s, 3H), 3.98 (m, 1 H), 3.85 (m, 2H), 3.69 (m, 4H), 2.95 (s, 3H), 2.38 (m, 2H).

Ejemplo 92 (Ejemplo Comparativo):

- 15 (+)-*trans*-2-(2-clorofenil)-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona maleato

- El compuesto del ejemplo (8) (50 mg, 0.116 mmol) se suspendió en metanol (2 mL) y se agitó. A éste se le añadió ácido maleico (14 mg, 0.116 mmol) y la solución se agitó y se evaporó para obtener la sal, (+)-*trans*-2-(2-clorofenil)-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona maleato.
- 20

Rendimiento: 5 mg (78%);

¹ H NMR (CD₃OD, 300 MHz): δ 7.78 (d, 1H), 7.62 (d, 1H), 7.56 (t, 1H), 7.49 (t, 1H), 6.76 (s, 1 H), 6.47 (s, 1 H), 6.25 (s, 2H), 4.35 (m, 1 H), 4.09 (s, 3H), 4.01 (s, 3H), 3.83 (m, 2H), 3.69 (m, 1 H), 3.56 (m, 1 H), 3.32 (m, 1 H), 2.95 (s, 3H), 2.41 (M, 1 H), 2.28 (m, 1 H).

5

Ejemplo 93 (Ejemplo Comparativo):

(+)-*trans*-2-(2-clorofenil)-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona nitrato

- 10 El compuesto del ejemplo (8) (50 mg, 0.116 mmol) se suspendió en metanol (2 mL) y se agitó. A éste se le añadió ácido nítrico (7.1 mg, 0.113 mmol) y la solución se agitó y se evaporó para obtener la sal del título, (+)-*trans*-2-(2-clorofenil)-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona nitrato.

Rendimiento: 57 mg (99%);

- 15 ¹ H NMR (CD₃OD, 300 MHz): δ 7.79 (d, 1H), 7.53 (m, 3H), 6.77 (s, 1 H), 6.49 (s, 1 H), 4.35 (m, 1 H), 4.10 (s, 3H), 4.02 (s, 3H), 3.86 (m, 2H), 3.74 (m, 1 H), 3.57 (M, 1 H), 3.39 (m, 1 H), 2.96 (s, 3H), 2.43 (m, 1 H), 2.32 (m, 1 H).

Ejemplo 94 (Ejemplo Comparativo):

- 20 (+)-*trans*-2-(2-clorofenil)-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona acetato

El compuesto del ejemplo (8) (50 mg, 0.116 mmol) se suspendió en metanol (2 mL) y se agitó. A éste se le añadió ácido acético (7 mg, 0.11 mmol) y la solución se agitó y se evaporó para obtener la sal del título, (+)-*trans*-2-(2-clorofenil)-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona acetato.

5 Rendimiento: 56 mg (100%);

¹ H NMR (CD₃OD, 300 MHz): δ 7.79 (d, 1H), 7.57 (m, 3H), 6.77 (s, 1 H), 6.48 (s, 1 H), 4.35 (m, 1 H), 4.17 (s, 3H), 4.02 (s, 3H), 3.98 (m, 1 H), 3.86 (m, 2H), 3.70 (m, 1 H), 3.57 (m, 1 H), 3.31 (s, 3H), 2.95 (s, 3H), 2.43 (m, 1 H), 2.30 (m, 1 H); [α]_D²⁵: 2.85 °. (c = 0.14, metanol).

10

Ejemplo 95 (Ejemplo Comparativo):

(+)-*trans*-2-(2-clorofenil)-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona gluconato

15 El compuesto del ejemplo (8) (50 mg, 0.116 mmol) se suspendió en metanol (2mL) y se agitó. A éste se le añadió ácido glucónico (21 mg, 0.11 mmol) y la solución se agitó y se evaporó para obtener la sal, (+)-*trans*-2-(2-clorofenil)-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona gluconato.

Rendimiento: 71 mg (100%);

20 IR (KBr): 3445, 1648, 1560 cm⁻¹;

¹ H NMR (CD₃OD, 300 MHz): δ 7.61 (d, 1H), 7.59 (m, 3H), 6.76 (s, 1 H), 6.73 (s,

1 H), 4.75 (m, 2H), 4.09 (s, 3H), 3.82 (s, 3H), 3.70 (m, 9H), 3.30 (m, 1 H), 2.89 (s, 3H), 2.34 (m, 2H);

MS (ES +): m/z 430 (M +1), base libre;

α_D^{25} : 2.85 ° (c = 0,14, metanol);

- 5 Análisis: (C₂₉H₃₆ClN₁₂CH₂O) C 54.31 (54.08), H 5.90 (5.94), N 2.49 (2.17), Cl 5.62 (5.34), Agua 3.30 (2.79).

Ejemplo 96 (Ejemplo Comparativo):

(-)-*trans*-2-(2-clorofenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-

- 10 cromen-4-ona clorhidrato

(Este compuesto es el (-)-*trans* enantiómero del compuesto que se ilustra en el ejemplo 10. El (-)-*trans* enantiómero se prepara para comparar su actividad con la de su (+)-*trans* enantiómero correspondiente.)

- 15 (A) (+)-*trans*-[1-metil-3-(2,4,6-trimetoxifenil)-pirrolidin-2-il]-metanol

Se añadió (+)-DBTA (112.7 g, 314.0 mmol) al compuesto del ejemplo (4) (88.5 g, 314 mmol) seguido de la adición de metanol (600 mL). La mezcla se calentó a reflujo durante 10 min., se agitó lentamente a temperatura ambiente durante 3 h., la sal cristalizada se filtró y se secó.

- 20 Rendimiento: 80.5 g (40%); α_D^{25} = 82.11 ° (c = 0.7, metanol).

La sal se agitó con solución acuosa al 10% de Na_2CO_3 (255 mL) y EtOAc (200 mL x 3) para obtener la base libre en la capa de EtOAc. La capa de EtOAc se concentró para obtener el compuesto del título.

Rendimiento: 30 g (98.5%);

5 $\alpha_D^{25} = 20.2^\circ$ (c = 0.7, metanol).;

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz): δ 6.13 (s, 2H), 3.90 (m, 1 H), 3.79 (s, 9H), 3.57 (dd, 1H), 3.38 (d, 1 H), 3.13 (m, 1 H), 2.69 (m, 1 H), 2.47 (m, 1 H), 2.34 (s, 3H), 2.00 (m, 1 H), 1.93 (m, 1 H).

10 (B) (+)-*trans*-acético ácido 3-(3-acetil-2-hidroxi-4,6-dimetoxifenil) metil pirrolidin-2-il-metil-1 éster

Se añadió BF_3 -eterato (36.8 g, 259 mmol) gota a gota, con agitación, a 0 °C, bajo atmósfera de N_2 a una solución de compuesto del ejemplo ((96 - (A)) (14.6 g, 51.9 mmol) en anhídrido acético (24.26 mL, 26.2 g, 256 mmoles). La mezcla de reacción se
15 agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Se vertió sobre hielo picado (1 kg), se basificó usando una solución acuosa de Na_2CO_3 saturado y se extrajo usando EtOAc (3 x 200 mL). El extracto orgánico se lavó con salmuera, se secó (Na_2SO_4 anhidro) y se concentró para obtener el compuesto del título.

Rendimiento: 17.8 g (98%);

20 ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz): δ 6.1 (s, 1 H), 4.22 (m, 2H), 4.15 (m, 1 H), 3.94 (s, 3H), 3.92 (s, 3H), 3.82 (m, 1 H), 3.57 (m, 1 H), 3.23 (m, 1 H), 2.85 (s, 3H), 2.64 (s, 3H), 2.28 (m, 2H), 2.01 (s, 3H).

(C) (+)-*trans*-1-[2-hidroxi-3-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-4,6-dimetoxifenil]
etanona

A una solución del compuesto del ejemplo (96 - (B)) (17.8 g, 50.7 mmol) en metanol (40 mL) se añadió con agitación, a temperatura ambiente, una solución acuosa de NaOH
5 10% (40 mL). La temperatura de la mezcla de reacción se elevó a 50 °C durante 45 min. Se enfrió a temperatura ambiente, se acidificó usando HCl conc. y se concentró para eliminar el metanol. Se basificó usando una solución de Na₂CO₃ acuosa saturada. El compuesto del título precipitado se filtró, se lavó con agua y se secó.

Rendimiento: 10.2 g (65%); pf: 173-174 °C; $\alpha_D^{25} = +4.12^\circ$ (c = 0.7, metanol);

10 ¹ H NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 5.96 (s, 1 H), 3.93 (m, 1 H), 3.91 (s 3H), 3.90 (s, 3H), 3.58 (dd, 1H), 3.42 (d, 1 H), 3.23 (m, 1 H), 2.80 (m, 1 H), 2.63 (s, 3H), 2.62 (m, 1 H), 2.40 (s, 3H), 2.00 (m, 2H); MS (ES +): m/z 310 (M +1).

(D) (-)-*trans*-2-(2-clorofenil)-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-
15 cromen-4-ona

Se añadió hidruro sódico (50%, 0.54 g, 11.25 mmoles) en porciones a una solución del compuesto del Ejemplo (96 - (c)) (0.7 g, 2.2 mmol) en DMF seca (15 mL) a 0 °C, bajo atmósfera de nitrógeno y con agitación. Al cabo de 10 min, se añadió metil 2-clorobenzoato (1 0.15 g, 6.75 mmoles). La mezcla de reacción se agitó a 25 °C durante
20 2 h. Se añadió metanol cuidadosamente por debajo de 20 °C. La mezcla de reacción se vertió sobre hielo picado (300 g), se acidificó con 1:1 HCl (pH 2) y se extrajo usando EtOAc (2 x 100 mL). La capa acuosa se basificó usando un Na₂CO₃ saturado (pH 10) y se extrajo con CHCl₃ (3 x 200 mL). La capa orgánica se secó (Na₂SO₄ anhidro) y se

concentró. Al residuo, se añadió HCl conc. (25 mL) y se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La mezcla de reacción se vertió sobre hielo picado (300 g) y se basificó usando una solución de Na₂CO₃ acuosa saturada. La mezcla se extrajo con CHCl₃ (3 x 200 mL). El extracto orgánico se lavó con agua, se secó (Na₂SO₄ anhidro) y se
 5 concentró para obtener el compuesto del título.

Rendimiento: 0.625 g (65%); pf: 95-97 °C; IR (KBr): 3431, 1648, 1598, 1571 cm⁻¹; $\alpha_D^{25} = -4.95^\circ$ (c = 0.7, metanol); ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) : δ 7.70 (dd, 1H), 7.68 (m, 3H), 6.50 (s, 1 H), 6.44 (s, 1 H), 4.20 (m, 1 H), 4.00 (s, 3H), 3.96 (s, 3H), 3.66 (dd, 1H), 3.37 (d, 1H), 3.15 (m, 1 H), 2.77 (d, 1H), 2.54 (m, 1 H), 2.33 (s, 3H), 2.05 (m,
 10 2H), MS (ES +): m/z 430 (M +1).

(E) (-)-*trans*-2-(2-clorofenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona

15 Se añadió clorhidrato de piridina fundido (2 g, 17.3 mmol) al compuesto del ejemplo (96 - (D)) (0.2 g, 0.46 mmol) y se calentó a 180 °C durante 1.5 h. La mezcla de reacción se enfrió a 25 °C, se diluyó con MeOH (10 mL) y se basificó usando Na₂CO₃ a pH 10. La mezcla se filtró y la capa orgánica se concentró. El residuo se suspendió en agua (5 mL), se agitó durante 30 min., se filtró y se secó para obtener el compuesto del título.

20 Rendimiento: 0.125 g (67.6%); pf: 228-230°C; IR (KBr): 3422, 3135, 1664, 1623, 1559 cm⁻¹; EM (ES +): m/z 402 (M +1); Análisis: C₂₁H₂₀ClNO₅ 0.5 H₂O C, 61.81 (61.33), H 4.62 (5.00), N 3.75 (3.33), Cl. 8.47 (8.45).

(F) (-)-*trans*-2-(2-clorofenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona clorhidrato

El compuesto del Ejemplo (96 - (E)) (4.09 g, 10.18 mmol) se suspendió en IPA (5 mL) y se añadió 3.5% de HCl (25 mL). La suspensión se calentó para obtener una solución
5 clara. La solución se enfrió y se filtró el sólido para obtener el compuesto del título.

Rendimiento: 4.47 g (99%); pf: 180-184 °C; $\alpha_D^{25} = -20.2^\circ$ (c = 0.4, metanol).;

^1H NMR (CD₃OD, 300 MHz): δ 7.80 (d, 1H), 7.60 (m, 3H), 6.54 (s, 1 H), 6.37 (s, 1 H), 4.23 (m, 1 H), 3.89 (m, 2H), 3.63 (m, 1 H), 3.59 (dd, 1H), 3.38 (m, 1 H), 2.97 (s, 3H), 2.51 (m, 1 H), 2.30 (m, 1 H); EM (ES +): m/z 402 (M - 36.5); Análisis: C₂₁H₂₁Cl₂NO₅
10 C, 57.2 (57.55); H, 4.92 (4.83); N, 2.98 (3.20); Cl, 15.74 (16.18).

Ejemplo 97 (Ejemplo Comparativo):

(-)-*trans*-2-(2-cloro-4-nitrofenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona clorhidrato

15 (Este compuesto es el (-)-*trans* enantiómero del compuesto que se ilustra en el ejemplo 50. El (-)-*trans* enantiómero se preparó para comparar su actividad con la de su (+)-*trans* enantiómero correspondiente)

(A) (-)-*trans* 2-Cloro-4- ácido nitrobenzoico 2-(2-acetoximetil-1-metil pirrolidin-3-il)-6-acetil-3,5-dimetoxifenil éster
20

2-Cloro-4- ácido nitrobenzoico (3.55 g, 17 mmoles) y cloruro de tionilo (2 mL) se calentaron juntos a 85 °C durante 3 horas. El exceso de cloruro de tionilo se evaporó bajo presión reducida y el residuo se secó al vacío y se disolvió en THF (50 mL). A éste

se le añadió gota a gota a una solución del compuesto del Ejemplo (96 - (B)) (4 g, 11 mmol) y trietilamina (15 mL, 108 mmol) en THF (100 mL) mantenida a 15 - 20 °C. La mezcla de reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 12 horas. Al cabo de 12 horas, la mezcla de reacción se concentró para eliminar el THF, se acidificó con HCl diluido, se basificó con solución de NaHCO₃ al 10% a pH 10, se extrajo con EtOAc (3 x 100mL), se lavó con agua (50 mL), salmuera (50 mL) y la capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. La capa orgánica se concentró a presión reducida para obtener el compuesto del título como un aceite que se utilizó como tal para la reacción posterior sin purificación.

10 Rendimiento: 1.62 g (25%); ¹ H NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 8.35 (d, 1H), 8.25 (m, 2H), 6.45 (s, 1 H), 4.10 (m, 1 H), 3.94 (s, 6H), 3.59 (m, 1 H), 3.17 (m, 1 H), 2.70 (m, 1 H), 2.49 (s, 3H), 2.46 (m, 2H), 2.35 (s, 3H), 2.17 (m, 1 H), 1.95 (m, 1 H), 1.83 (s, 3H); MS (ES +): m/z 535 (M +1).

15 (B) (-)-*trans*-2-(2-cloro-4-nitrofenil)-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi- cromen-4-ona

A una solución de n-BuLi (15% en hexano, 2.54 mL, 5.8 mmol) en THF (25 mL), mantenida a 0 °C bajo atmósfera de nitrógeno, se añadió hexametildisilazano (1.25 mL, 5.8 mmoles) gota a gota y se agitó durante 15 min. A éste, se añadió una solución de (-)-*trans*-2-cloro-4-ácido nitrobenzoico 2-(2-acetoximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-6-acetil-3,5-dimetoxi-fenil éster (1.6 g, 3 mmol) en THF (25 mL) gota a gota, manteniendo la temperatura a 0 °C. Después de la adición, la reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 2.5 horas. La mezcla de reacción se acidificó con HCl diluido y se basificó con solución de NaHCO₃ al 10% a pH 8 a 9. La capa acuosa se

extrajo con cloroformo (3 x 50 mL). La capa orgánica se lavó con agua (25 mL), salmuera (25 mL), y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. La capa orgánica se concentró a presión reducida y al vacío para producir ácido acético 3-{3-[3-(2-cloro-4-nitrofenil)-3-oxopropionil]-2-hidroxi-4,6-dimetoxifenil}-1-metil-pirrolidin-2-ilmetil éster en forma

5 de un sólido amarillo (1.6 g). Este éster se disolvió en HCl conc. (16 mL) y se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas para efectuar la ciclación. Al cabo de 3 horas, la mezcla de reacción se basificó con NaHCO₃ sólido a pH 8 a 9. La capa acuosa se extrajo con cloroformo (3 x 50 mL) y se lavó con agua (25 mL) y salmuera (25 mL). La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se concentró a presión reducida y se secó

10 sobre vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna con 3% de metanol en cloroformo y 0.1% de amoníaco como eluyente para dar el compuesto del título como un sólido amarillo.

Rendimiento: 0.71 g (50%); IR (KBr): 3447, 1648, 1600, 1570 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃): δ 8.37 (d, 1H), 8.26 (dd, 1H), 8.09 (d, 1 H), 6.67 (s, 1 H), 6.46 (s, 1 H), 4.18

15 (m, 1 H), 4.01 (s, 3H), 3.98 (s, 3H), 3.67 (m, 1 H), 3.32 (m, 1 H), 3.19 (m, 1 H), 2.62 (m, 2H), 2.36 (s, 3H), 2.04 (m, 2H), MS (ES +): m/z 475 (M +1).

(C) (-)-*trans*-2-(2-cloro-4-nitrofenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1- metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona

20 Una mezcla de (-)-*trans*-2-(2-cloro-4-nitrofenil)-8-(2-hidroximetil-1-metil pirrolidin-3-il)- ,7-dimetoxi-cromen-4-ona (0.4 g, 0.8 mmol), clorhidrato de piridina (0.48 g, 4.1 mmol) y una cantidad catalítica de quinolina se calentó a 180 °C durante un período de 2 horas. La mezcla de reacción se enfrió y se diluyó con metanol (50 mL) y se basificó con Na₂CO₃ sólido hasta pH 10. La mezcla de reacción se filtró, y se lavó con metanol.

La capa orgánica se concentró y el residuo se purificó por cromatografía en columna usando 0.1% de amoníaco y 3% de metanol en cloroformo como eluyente para dar el compuesto del título como un sólido amarillo.

Rendimiento: 0.24 g (65%); MS (ES +): m/z 447 (M +1)

5

(D) (-)-*trans*-2-(2-cloro-4-nitrofenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1 - metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona clorhidrato

(-)-*trans*-2-(2-cloro-4-nitrofenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona clorhidrato (0.2 g, 0.4 mmol) se suspendió en metanol (10 mL) y se trató con HCl etéreo y el disolvente orgánico se evaporó para obtener la sal del título.

Rendimiento: 0.18 g (85%); ¹ H NMR (CD₃OD, 300 MHz): δ 8.51 (d, 1H), 8.36 (dd, 1H), 8.09 (d, 1H), 6.69 (s, 1 H), 6.41 (s, 1 H), 4.25 (m, 1 H), 3.91 (m, 2H), 3.73 (m, 1 H), 3.70 (m, 1 H), 3.63 (m, 1 H), 3.00 (s, 3H), 2.55 (m, 1 H), 2.32 (m, 1 H); MS (ES+) m/z 483 (M +1).

15

Ejemplo 98: (Ejemplo comparativo: Preparado según el método descrito en la Solicitud de Patente nº US 2004/0106581)

(-)-*trans*-[1-metil-3-(2,4,6-trimetoxifenil)-pirrolidin-2-il]-metanol

El compuesto del Ejemplo 4 (27.3 g, 97.1 mmol), se disolvió en metanol (100 mL) y se calentó a 70 °C. A esta solución caliente se añadió (+) DBTA (36.51 g, 101.9 mmoles) y se continuó el calentamiento durante 10 min. Se concentró hasta obtener un sólido

(63.81 g), que se cristalizó usando metanol (45 mL) e isopropanol (319 mL). Se filtró y se lavó con una mezcla de isopropanol y posteriormente se secó, proporcionando la sal de tartrato cristalina (13.14 g), $\alpha_D^{25} = 55.34^\circ$ ($c = 1.14$, metanol). A continuación, este producto se recrystalizó usando metanol (10 mL) e isopropanol (40 mL). Se aisló tal como se describe anteriormente, rendimiento: 9.04 g, $\alpha_D^{25} = 49.67^\circ$ ($c = 1.248$, metanol). La base libre se obtuvo a partir de este producto de la siguiente manera. La sal (9 g) se suspendió en acetato de etilo (100 mL). A esta suspensión se añadió una solución de NaHCO_3 acuosa al 5% (100 mL) y la mezcla se agitó durante 30 minutos. La porción orgánica se separó y la porción acuosa se extrajo adicionalmente con acetato de etilo (2 x 50 mL). Las porciones orgánicas se combinaron y se concentraron para obtener el compuesto, (-)-*trans*-[1-metil-3-(2,4,6-trimetoxifenil) pirrolidin-2-il] metanol. Rendimiento: 3.6 g (26.3%). $\alpha_D^{25} = -17.6^\circ$ ($C = 1.1$, metanol).

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3): δ 6.13 (s, 2H), 3.90 (m, 1 H), 3.79 (s, 9H), 3.51 (dd, 1H), 3.38 (d, 1H), 3.13 (m, 1 H), 2.69 (m, 1 H), 2.47 (m, 1 H), 2.34 (s, 3H), 2.00 (m, 1 H), 1.93 (m, 1 H).

MS (ES +): m/z 282 ($M + 1$).

Este compuesto se sometió a HPLC quiral. La HPLC quiral se realizó usando una columna Chiralcel OD-H (250 x 4.6 mm) y el sistema de disolvente hexano:etanol (92:08) con TFA (0.4%). Los resultados registraron 264nm con un flujo de disolvente de 1 mL / min. Tal como se representa en la figura 2, la HPLC quiral mostró 88.3% de e.e del compuesto, (-)-*trans*-[1-metil-3-(2,4,6-trimetoxifenil) pirrolidin-2-il]-metanol.

Ensayo biológico:

La eficacia de los (+)-*trans* enantiómeros de los compuestos de la fórmula I en la inhibición de la actividad de las quinasas dependientes de ciclina puede ser determinada por un número de ensayos farmacológicos bien conocidos en la técnica, tal como se describe a continuación o, por ejemplo, en Losiewicz, M. D., et al. Biochem Biophys. Res. Commun, 1994, 201, 589. Las quinasas, ciclinas y sustratos utilizados en el ensayo in vitro de quinsa pueden ser proteínas aisladas de células de mamífero, o, alternativamente, pueden ser proteínas producidas de forma recombinante. Los ensayos farmacológicos ejemplificados tal como se describe a continuación en el presente documento se han llevado a cabo con los compuestos de la presente invención y sus sales.

Ensayo de Quinasa CDK4/Ciclina D1 y Ensayo de Quinasa CDK2/Ciclina E

Los ensayos miden la fosforilación de la proteína del retinoblastoma (Rb) mediante CDK4 o CDK2 con la activación por ciclina D1 o ciclina E, respectivamente, mediante la *transferencia* de ($\gamma^{32}\text{P}$) - fosfato a partir de $\gamma^{32}\text{P}$ -ATP en un ensayo de placa de filtro de 96 pocillos.

Materiales:

CDK4 o CDK2 se coexpresaron con ciclina D1 o ciclina E, respectivamente, mediante un sistema de expresión de baculovirus en células de insecto. Para ello, 1×10^7 células Sf9 fueron coinfectadas con baculovirus que contenían CDK-4 o 2 y ciclina D1 humanos o genes E y al cabo de 72 horas las células se lisaron en 500 l μl de un

solución de lisis (50 mM HEPES (pH 7.5), MgCl₂ 10mM, 1 mM de DTT, 5 dg / mL de aprotinina, 5 µg / mL de leupeptina, 0.1 mM de NaF, 0.2 mM de fluoruro de fenilmetilsulfonilo (PMSF), y ortovanadato de sodio. El lisado centrifugado se purificó en una columna de GST-sefarosa. La pureza de las proteínas se comprobó mediante SDS-PAGE seguido por análisis de inmunoblot usando anticuerpos específicos (Santacruz Biotech, EE.UU.) para CDK4 o CDK2.

La proteína GST-retinoblastoma (Rb) (aa 776-928) de fusión se expresa en la bacteria *E. coli* y se purificó por cromatografía de afinidad de GSH-Sepharose. La GST-Rb unida a estas bolitas sirvió como el sustrato en el ensayo.

10

Lectura:

La cuantificación se realizó mediante la detección de centelleo de (³²P)-GST-Rb en placas de filtración de 96 pocillos usando un contador de centelleo de 96 pocillos Top Count (Packard, EE.UU.).

15

Procedimiento:

El ensayo de la enzima CDK4 o CDK2 se ejecutó en formato de 96 pocillos usando placas de filtración Millipore Multiscreen. Todas las etapas del ensayo se llevaron a cabo en una placa de filtro único (placas Unifilter, Packard, EE.UU.). Los pocillos de filtración se pre-hunidificaron mediante un solución de quinasa (100DI/pocillo) y la solución se eliminó a continuación mediante la aplicación de vacío, con la placa de filtro en un colector de vacío y el vacío encima. Se añadieron 50 µl de GST-Rb unido a bolitas de GSH-Sepharose en solución de quinasa (0.5 Dg GST-Rb/50 µl) a cada pocillo

y se aplicó vacío para eliminar la solución. Se añadieron 25 µl más de una mezcla de reacción que contenía inhibidores de ATP (frío + caliente) y de fosfatasa diluidos en solución de quinasa a cada pocillo, seguido por la adición de compuesto de ensayo (4x concentración final en tampón de quinasa) o de tampón de quinasa (control) en un volumen adicional de 25 µl. Finalmente, se añadieron 50 µl (100 ng) de enzima CDK-4/D1 o CDK-2 / E humana en solución de quinasa a cada pocillo para iniciar la reacción. La reacción se incubó durante 30 min a 30 °C. Una vez completada la reacción, se aplicó vacío y la placa se lavó con la solución de lavado (solución TNEN) tres veces. La placa de filtro se secó mediante aire y se colocó en una placa adaptadora Multiscreen. A cada pocillo, se añadió un cóctel de 30 µl de Packard Microscint - O y la placa se cubrió con una película Top-Seal A. La placa se contó en un contador de centelleo Packard Top Count durante 10 min. El flavopiridol se utilizó como un inhibidor estándar en todos los experimentos.

La concentración de compuesto a la que se inhibió 50% de la actividad de fosfocinasa de CDK4-ciclina D1 y CDK2-ciclina E (IC₅₀) se calculó para los compuestos representativos y sus sales farmacéuticamente aceptables descritos en los Ejemplos.

Los resultados se indican en la Tabla 1.

Tabla 1:

Compuesto(s)	IC ₅₀ (μM)	
	CDK4-ciclina D1	CDK2-ciclina E
Compuesto del Ejemplo 10	0.065	2.8
Compuesto del Ejemplo 96-(F)	NA	21
Compuesto del Ejemplo 50	0.045	1.7
Compuesto del Ejemplo 97-(D)	1	>10
Flavopiridol	60	360

Ensayos de proliferación celular y citotoxicidad *in vitro*:

Se experimentaron cultivos de crecimiento exponencial de diez líneas celulares cancerosas humanas (Calu1 de pulmón, A-549 de pulmón, HT-29 de colon, Leucemia promielocítica HL-60, PC-3 de próstata, H-460 de pulmón, M DA-MB -231 de mama, MCF-7 de mama, HeLa de cuello uterino, Colo-205 de colon, linfoma H9 (células T), Linfoma Histiocítico U-937 linfoma (monocitos) y Caco-2 de colon) obtenidos de NCCS, Pune, India. La proliferación *in vitro* de células (NCI, protocolo de EE.UU.) y los ensayos de citotoxicidad se llevaron a cabo usando procedimientos estándar. Captación de ³H-timidina y ensayo de MTS, respectivamente. (Para captación de ³H-timidina: Cell Biology, A Laboratory Handbook, 1998, Vol 1 Ed Julio E. Cens, y para el ensayo de MTS: Protocolo Promega, EE.UU., 2000). En el ensayo de captación de ³H-timidina, las células se recogieron después de 72 horas sobre placas Unifilter GF / B (Packard, EE.UU.), utilizando una cosechadora Packard Filtermate Universal y las

placas se contaron en un contador de centelleo líquido Packard TopCount de 96 pocillos. La concentración de compuesto a la que se inhibió el 50% de la actividad proliferativa (IC₅₀) y el grado de toxicidad del compuesto se calcularon para los compuestos representativos y sus sales farmacéuticamente aceptables descritos en los

5 Ejemplos. Los resultados se indican en la Tabla 2 a continuación.

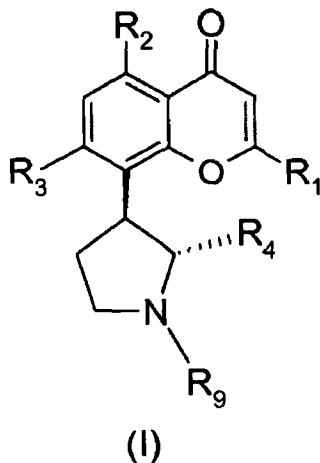
Tabla 2:

Compuesto(s)	Ensayo con Timidina			Citotoxicidad de MTS		
	(IC ₅₀ μ M)			(IC ₅₀ μ M)		
	Calu 1 (Pulmón)	A-549 (Pulmón)	HT-29 (Pulmón)	Calu 1 (Pulmón)	A-549 (Pulmón)	HT-29 (Pulmón)
Compuesto del Ejemplo 10	<0.3	0.18	0.68	0.88	0.7	0.58
Compuesto del Ejemplo 96-(F)	NA	10	25M	16.3	16	17.9
Compuesto del Ejemplo 50	<0.3	1.2	1.5	1.4	1.2	1.1
Compuesto del Ejemplo 97-(D)	ND	*NA	10	ND	*NA	*NA
* No se ha Observado ninguna Inhibición Estadísticamente Significativa NA - No activo ND - No realizado						

Los resultados indican que el (+) - *trans*- *enantiómero* de los compuestos de la fórmula (I) es un inhibidor más potente que su (-)- *trans* *enantiómero*. Por lo tanto, la administración de los (+)-*trans*- *enantiómeros* de los compuestos de la fórmula (I) sustancialmente libre de (-)-*trans* *enantiómeros* proporciona una reducción en la dosis requerida de medicamento.

Reivindicaciones:

1. Compuesto enantioméricamente puro representado por la siguiente fórmula (I), y una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;



5 en que,

R_1 es fenilo, que es sustituido por 2 sustituyentes distintos: cloro o, trifluorometilo;

R_2 y R_3 se seleccionan cada uno independientemente de: hidroxilo y OR_8 ; en que R_8 es C_1 - C_{10} -alquilo no sustituido;

10 R_4 es C_1 - C_4 alquilenehidroxi; y

R_9 es C_1 - C_4 alquilo; en que el término “enantioméricamente puro” se refiere a un compuesto que se encuentra presente en un exceso enantiomérico superior al 95%.

2. El compuesto enantioméricamente puro de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, seleccionado entre:

15

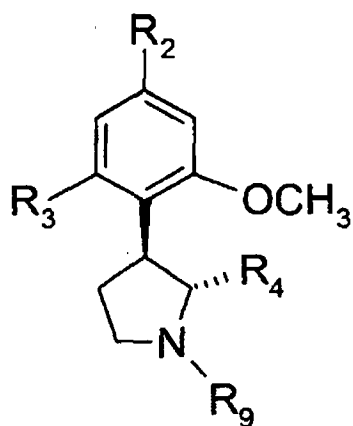
(+)- *trans*-2-(2-Cloro-4-trifluorometilfenil)-8- (2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il) -5,7-dimetoxi-cromen-4-ona;

(+)-*trans*-2-(2-Cloro-4-trifluorometilfenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona; o

5 (+)-*trans*-2-(2-cloro-4-trifluorometilfenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona clorhidrato;

3. Un proceso para la preparación de un compuesto enantioméricamente puro de un compuesto de la fórmula (I) tal como se reivindica en la reivindicación 1 o 2, que
10 comprende las fases de:

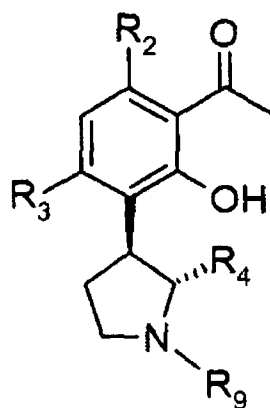
(a) tratar el (-)-*trans* enantiómero de un compuesto representado por la fórmula (VIA):



VIA

en que R₂ y R₃ son metoxi, R₉ es metil y R₄ es hidroximetil; con anhídrido acético
15 en presencia de un catalizador de ácido de Lewis seleccionado entre: trifluorato de

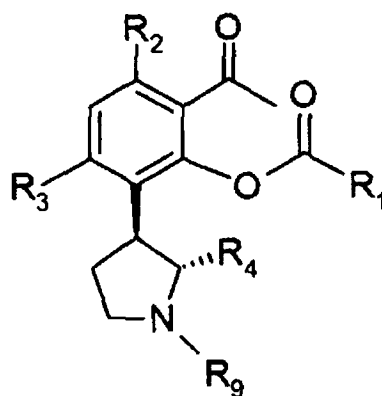
boro, eterato de dietil, clorato de zinc, clorato de aluminio y clorato de titanio;
para obtener un compuesto acetilado resuelto de la fórmula (VIIA),



VIIA

en que R_2 , R_3 y R_9 son tal como se define más arriba y R_4 es $CH_2OC(O)CH_3$;

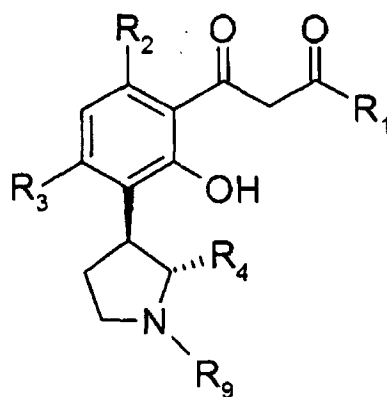
- 5 (b) hacer reaccionar el compuesto acetilado resuelto de fórmula (VIIA) con un ácido de fórmula R_1COOH o un cloruro de ácido de fórmula R_1COCl o un anhídrido de ácido de fórmula $(R_1CO)_2O$ o un éster de fórmula R_1COOCH_3 , donde R_1 es como se define en la reivindicación 1, en presencia de una base y un disolvente para obtener un compuesto de la fórmula (VIII A);



VIII A

en que R_1 , R_2 , R_3 y R_9 son como se define anteriormente en este documento y R_4 es $\text{CH}_2\text{OC}(\text{O})\text{CH}_3$;

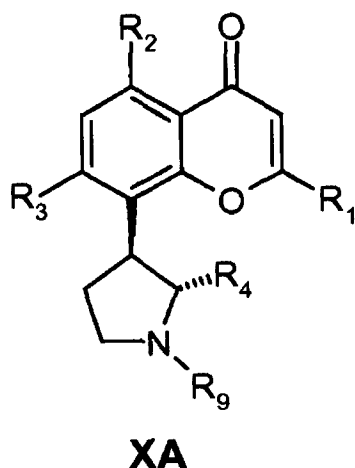
- (c) tratar el compuesto resuelto de fórmula (VIII A) con una base seleccionada entre: hexametildisilazida de litio, hexametildisilazida de sodio, hexametildisilazida de potasio, hidruro de sodio e hidruro de potasio; para obtener el compuesto resuelto de β -dicetona correspondiente de la fórmula (IX A);



IXA

en que R_1 , R_2 , R_3 y R_9 son tal como se definen anteriormente en este documento y R_4 es $\text{CH}_2\text{OC}(\text{O})\text{CH}_3$;

- (d) tratar el compuesto de β -dicetona resuelto de la fórmula (IX A) con un ácido tal como ácido para obtener el compuesto ciclado correspondiente de la fórmula (XA),

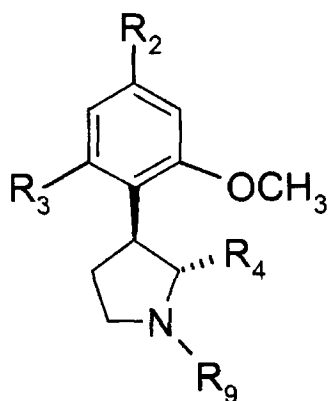


en que R_1 , R_2 , R_3 y R_9 son tal como se definen anteriormente en este documento,
 R_4 es CH_2OH ;

- (e) tratar el compuesto resuelto de fórmula (XA) con un agente desalquilante
 5 seleccionado entre: clorhidrato de piridina, tribromuro de boro, trifluoruro de boro
 eterato y tricloruro de aluminio para realizar la desalquilación a una temperatura
 que oscila desde 120 hasta 180 °C para obtener el compuesto enantioméricamente
 puro de la fórmula (I); en que R_1 es fenil, que es sustituido con dos sustituyentes
 distintos: cloro y trifluorometil; R_2 y R_3 son hidroxil, R_4 es CH_2OH y R_9 es metil.

10

4. El proceso de acuerdo con la reivindicación 3, en que el compuesto de la fórmula
 (VIA);

**VIA**

donde R_2 y R_3 son metoxi, R_9 es metil y R_4 es hidroximetil;

se prepara haciendo reaccionar un racemato del compuesto de la fórmula (VIA) con un auxiliar quiral; (-)-dibenzoil ácido tartárico ((-)-DBTA) en presencia de metanol para
 5 obtener una mezcla de sales diastereoméricas de los (+)- y (-)-*trans* enantiómeros del compuesto de la fórmula (VIA), separando las sales diastereoméricas respectivas y tratando la sal diastereomérica del (-)-*trans* enantiómero con carbonato de sodio.

5. Una composición farmacéutica para el tratamiento del cáncer, que comprende una
 10 cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto enantioméricamente puro de la fórmula (I) tal como se reivindica en la reivindicación 1 o 2, o una sal farmacológicamente aceptable del mismo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable y, opcionalmente, un aditivo.

15 6. El compuesto enantioméricamente puro de la fórmula (I) tal como se reivindica en la reivindicación 1 o 2, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su utilización en el tratamiento del cáncer.

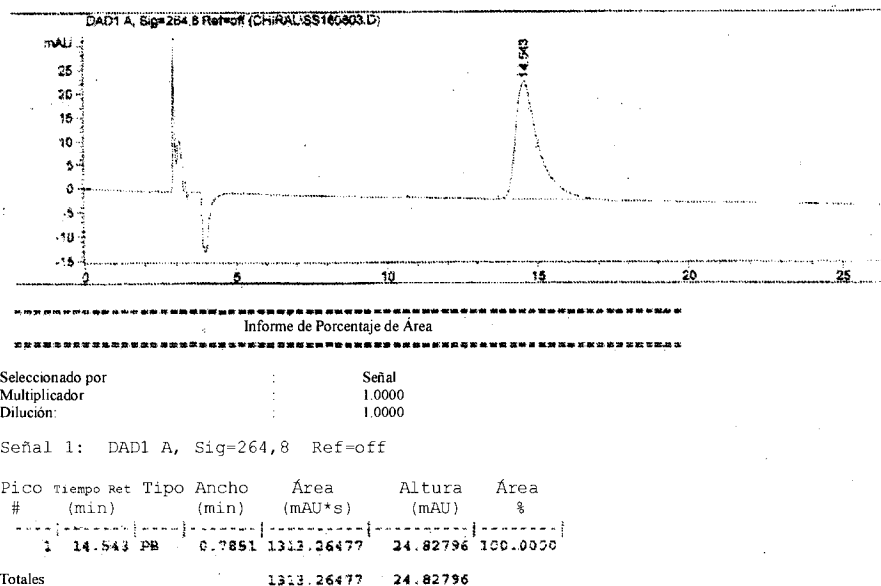
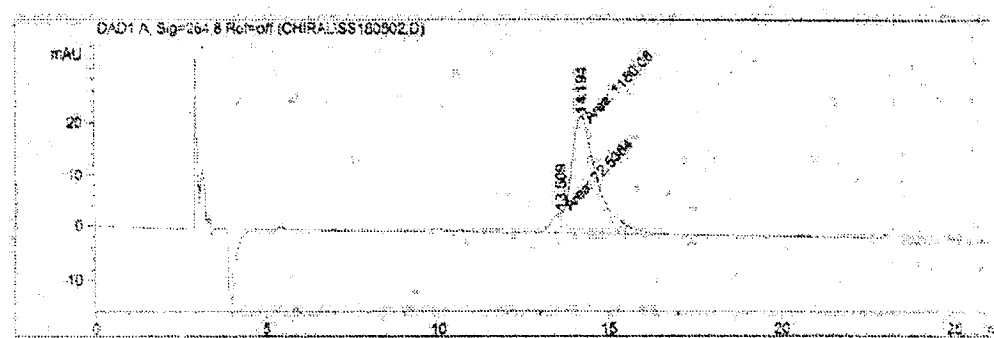


FIGURA 1



Informe de Porcentaje de Área

Seleccionado por : Señal
 Multiplicador : 1.0000
 Dilución: 1.0000

Señal 1: DAD1 A, Sig=264,8 Ref=off

Pico #	Tiempo (min)	Ret (min)	Tipo	Ancho (min)	Área (mAU*s)	Altura (mAU)	Área %
1	13.608	MF		0.3164	72.53842	3.82076	5.9849
2	14.194	FM		0.8751	1160.08215	22.09379	94.1151
Totales					1232.52057	25.91454	

FIGURA 2

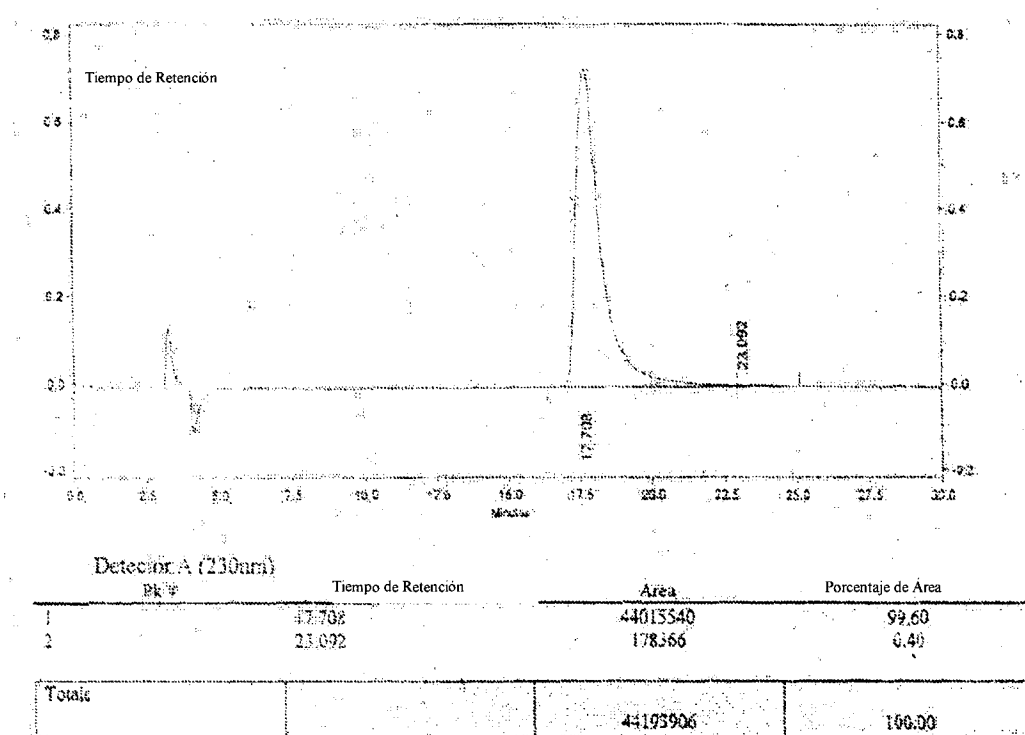


FIGURA 3

REFERENCIAS CITADAS EN LA DESCRIPCIÓN

Esta lista de referencias citada por el solicitante es solamente para facilitar la lectura. No forma parte del documento de Patente Europea. Aunque se ha tenido un cuidado extremado a la hora de recopilar las referencias, no pueden descartarse errores u omisiones, y la EPO declina cualquier responsabilidad a este respecto.

Documentos de patente citados en la descripción:

- US 20040106581 A [0006] [0021] [0022] [0052] [0053] [0076]
- US 2004010658 A [0050]
- US 4900727 A [0055]

Literatura no de patente citada en la descripción:

- *J. Chem. Soc.*, 1933, 1381 [0060]
- *Curr. Sci.*, 1933, vol. 4, 214 [0060]
- Remington's Pharmaceutical Sciences. Mack Publishing Co, [0070]
- Pharmaceutical Dosage Form and Drug Delivery Systems. Williams & Wilkins, 1995 [0070]
- *J. Cell Sci.*, 1995, vol. 108, 2897 [0077]
- Merck Index. 1996 [0078]
- GOODMAN ; GILMAN'S et al. The Pharmacological Basis of Therapeutics. McGraw-Hill, 1996, 1225-1287 [0079]
- LOSIEWICS, M. D. et al. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1994, vol. 201, 589 [0195]
- For H-Thymidine uptake: Cell Biology, A Laboratory Handbook. 1998, vol. 1 [0202]