

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 528 948**

51 Int. Cl.:

C07D 209/46 (2006.01)

C07D 209/52 (2006.01)

C07D 401/06 (2006.01)

C07D 403/06 (2006.01)

C07D 405/04 (2006.01)

C07D 493/04 (2006.01)

C07D 207/416 (2006.01)

A61K 31/4025 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.09.2010 E 10757922 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.11.2014 EP 2480531**

54 Título: **Derivados de pirrolidinona carboxamida como moduladores de quemerina-R (ChemR23)**

30 Prioridad:

21.09.2009 US 244419 P

28.04.2010 US 329046 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
13.02.2015

73 Titular/es:

CHEMOCENTRYX, INC. (100.0%)

850 Maude Avenue

Mountain View California 94043, US

72 Inventor/es:

CHARVAT, TREVOR T.;

CHU, HIUFUNG;

KRASINSKI, ANTONI;

LANGE, CHRISTOPHER W.;

LELETI, MANMOHAN REDDY;

POWERS, JAY P.;

PUNNA, SREENIVAS;

SULLIVAN, TIMOTHY J. y

UNGASHE, SOLOMON

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

ES 2 528 948 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

Derivados de pirrolidinona carboxamida como moduladores de quemerina-R (ChemR23)

5 **Antecedentes de la invención**

La presente invención se dirige a nuevos compuestos y composiciones farmacéuticas que inhiben la unión del péptido quimioatrayente quemerina al receptor acoplado a proteína G (GPCR) ChemR23. Estos compuestos son útiles para prevenir enfermedades inflamatorias, incluyendo, pero sin limitación, psoriasis, dermatomiositis, lupus sistémico eritematoso (LSE), artritis, esclerosis múltiple y afecciones de síndrome metabólico incluyendo, pero sin limitación, obesidad, resistencia a la insulina, enfermedad cardiovascular, y transporte y metabolismo del colesterol.

Las células dendríticas plasmacitoides (pDC) representan un subconjunto pequeño (<0,5 %) pero versátil de leucocitos circulantes que funcionan en la interfaz entre la inmunidad adaptativa e innata. Las pDC están presentes en diversos sitios de tejidos, generalmente asociadas con la inflamación general así como con infiltrados de linfocitos, y se han comunicado en amígdalas reactivas, mucosa nasal inflamada, timo, lesiones cutáneas (herpes zoster, ampollas cutáneas, psoriasis vulgaris, lupus eritematoso, dermatitis de contacto, pero no en dermatitis atópica o melanoma), fluido de lavado peritoneal, y tumores epiteliales ováricos.

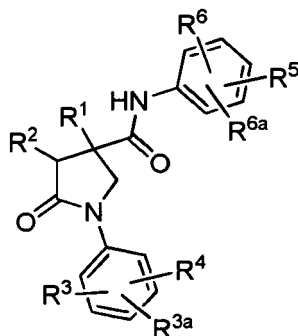
ChemR23, también llamada CMKLR1, QuemerinaR, y Dez es un receptor acoplado a proteína G relacionado con GPR-1 (38 % de identidad de aminoácidos general), con receptor C3a (38 %), con receptor de anafilotoxina C5a (36 %) y con receptores de formil Met-Leu-Phe (35 %). ChemR23 está relacionado de una manera más distante con la familia de receptores de quimiocinas (Methner A, Hermey G, Schinke B, Hermans-Borgmeyer I. (1997) Biochem Biophys Res Commun 233:336-42; Samson M, Edinger A L, Stordeur P, Rucker J, Verhasselt V, Sharron M, Govaerts C, Mollereau C, Vassart G, Doms R W, Parmentier M. (1998) Eur J. Immunol 28:1689-700). Se descubrió que los transcritos de ChemR23 son abundantes en células dendríticas y macrófagos derivados de monocitos, DC plasmacitoides (pDC), y linfocitos citolíticos naturales (NK). También puede detectarse una baja expresión mediante PCR de transcripción inversa en linfocitos T CD4+. El gen que codifica ChemR23 se mapea en la región q21.2-21.3 del cromosoma 12 humano, fuera del grupo de genes identificados para receptores quimioatrayentes. Es un receptor quimioatrayente putativo y puede jugar un papel crucial en el reclutamiento y/o tráfico de poblaciones de leucocitos. ChemR23, debido a su expresión específica en poblaciones de células dendríticas inmaduras, así como en macrófagos, es un receptor candidato atractivo implicado en la iniciación y regulación temprana de las respuestas inmunes.

El ligando para ChemR23, quemerina, se identificó como un ADNc que está regulado positivamente mediante el tratamiento de cultivos de piel en suspensión con el retinoide sintético anti-psoriático selectivo para receptor de ácido retinoico (RAR) beta/gamma, tazaroteno [AGN 190168/ 6-[2-(4,4-dimetiltiocroman-6-il)-etinil]nicotinato] de etilo (Nagpal S, Patel S, Jacobe H, DiSepio D, Ghosn C, Malhotra M, Teng M, Duvic M, Chandraratna R A. (1997) J. Invest Dermatol 109: 91-5). La quemerina se produce primeramente como una preproquemerina que sufre procesamiento proteolítico para revelar propiedades agonistas como ChemR23. El gen para preproquemerina se localiza en la posición 17p13.3. El ADNc de preproquemerina tiene 830 pb de longitud y codifica un producto proteico putativo de 163 aminoácidos.

Kadin S, (1976) J. Med. Chem. (19(1): 172-3 divulga la síntesis y propiedades antiinflamatorias de 4,5-dioxopirrolidin-3-carboxanilidas N-sustituidas.

Breve resumen de la invención

La presente invención proporciona en un aspecto, compuestos que tienen la Fórmula I:



(I)

y los estereoisómeros, rotámeros y variantes enriquecidas isotópicamente de los mismos, en la que los sustituyentes R¹, R², R³, R^{3a}, R⁴, R⁵, R⁶ y R^{6a} tienen los significados que se proporcionan más adelante.

En aspectos relacionados, la presente invención proporciona composiciones farmacéuticas que comprende uno o más de los compuestos de Fórmula I, opcionalmente mezclados con otro agente terapéutico, así como los compuestos para su uso en un método para tratar enfermedades o afecciones moduladas por ChemR23.

5 Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 proporciona estructuras y actividad para compuestos de la presente invención, preparados tal como se describe en los Ejemplos o de acuerdo con los esquemas más generales más adelante. La actividad se proporciona del modo siguiente: $CI_{50} \leq 30$ nM, +++; $30 \text{ nM} < CI_{50} \leq 300$ nM, ++; y $300 \text{ nM} < CI_{50} \leq 6000$ nM, +.

10 Descripción detallada de la invención

I. Abreviaturas y definiciones

El término "alquilo", por sí mismo o como parte de otro sustituyente, significa, a menos que se indique otra cosa, un radical hidrocarburo de cadena lineal o ramificada, que tiene el número de átomos de carbono designado (es decir, C_{1-8} significa de uno a ocho carbonos). Los ejemplos de grupos alquilo incluyen metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, t-butilo, isobutilo, sec-butilo, n-pentilo, n-hexilo, n-heptilo, n-octilo y similares. El término "alquenilo" se refiere a un grupo alquilo insaturado que tiene uno o más dobles enlaces. De forma análoga, el término "alquinilo" se refiere a un grupo alquilo insaturado que tiene uno o más triples enlaces. Los ejemplos de tales grupos insaturados incluyen vinilo, 2-propenilo, crotilo, 2-isopentenilo, 2-(butadienilo), 2,4-pentadienilo, 3-(1,4-pentadienilo), etinilo, 1- y 3-propinilo, 3-butinilo, y los homólogos e isómeros superiores. El término "cicloalquilo" se refiere a anillos hidrocarburo que tienen el número indicado de átomos en el anillo (por ejemplo, cicloalquilo C_{3-6}) y que están totalmente saturados o que tienen no más de un doble enlace entre vértices del anillo. "Cicloalquilo" también pretende hacer referencia a anillos hidrocarburo bicíclicos y policíclicos, tales como, por ejemplo, biciclo[2,2,1]heptano, biciclo[2,2,2]octano, etc. El término "heterocicloalquilo" se refiere a un grupo cicloalquilo que contiene de uno a cinco heteroátomos seleccionados entre N, O, y S, en el que los átomos de nitrógeno y azufre están opcionalmente oxidados, y uno o más de los átomos de nitrógeno están opcionalmente cuaternizados. El heterocicloalquilo puede ser un sistema de anillos monocíclico, uno bicíclico o uno policíclico. Los ejemplos no limitantes de grupos heterocicloalquilo incluyen pirrolidina, imidazolidina, pirazolidina, butirrolactama, valerolactama, imidazolidinona, hidantoína, dioxolano, ftalimida, piperidina, 1,4-dioxano, morfolina, tiomorfolina, tiomorfolina-S-óxido, tiomorfolina-S,S-óxido, piperazina, pirano, piridona, 3-pirrolina, tiopirano, pirona, tetrahidrofurano, tetrahidrotiofeno, quinuclidina y similares. Un grupo heterocicloalquilo puede estar unido al resto de la molécula a través de un carbono o un heteroátomo del anillo.

El término "alquilenilo", por sí mismo o como parte de otro sustituyente, significa un radical divalente obtenido a partir de un alcano, como se ilustra mediante $-CH_2CH_2CH_2CH_2-$. Típicamente, un grupo alquilo (o alquilenilo) tendrá de 1 a 24 átomos de carbono, prefiriéndose aquellos grupos que tienen 10 átomos de carbono o menos en la presente invención. Un "alquilo inferior" o "alquilenilo inferior" es un grupo alquilo o alquilenilo de cadena más corta, que tiene generalmente cuatro átomos de carbono o menos. De forma análoga, "alquenileno" y "alquinileno" se refieren a las formas insaturadas de "alquilenilo" que tienen dobles o triples enlaces, respectivamente.

Como se usa en la presente memoria, una línea ondulada, "~~~~", que se interseca con un enlace simple, doble o triple, en cualquier estructura química representada en el presente documento, representa el punto de unión del enlace simple, doble o triple al resto de la molécula.

Los términos "alcoxi", "alquilamino" y "alquiltio" (o tioalcoxi) se usan en su sentido convencional, y se refieren a aquellos grupos alquilo unidos al resto de la molécula mediante un átomo de oxígeno, un grupo amino o un átomo de azufre, respectivamente. Además, para grupos dialquilamino, las porciones alquilo pueden ser iguales o diferentes, y también pueden combinarse para formar un anillo de 3-7 miembros con el átomo de nitrógeno al que cada una está unida. Por consiguiente, se pretende que un grupo representado como dialquilamino o $-NR^aR^b$ incluya piperidinilo, pirrolidinilo, morfolinilo, azetidinilo y similares.

La expresión "di-(alquil C_{1-4})amino-alquilo C_{1-4} " se refiere a un grupo amino que porta dos grupos alquilo C_{1-4} que pueden ser iguales o diferentes (por ejemplo, metilo, etilo, propilo, isopropilo, n-butilo, sec-butilo, isobutilo y *tert*-butilo) y que está unido al resto de la molécula a través de un grupo alquilo C_{1-4} (un grupo enlazador alquilenilo de uno a cuatro carbonos). Los ejemplos de grupos di-(alquil C_{1-4})amino-alquilo C_{1-4} incluyen dimetilaminometilo, 2-(etil(metil)amino)etilo, 3-(dimetilamino)butilo y similares.

Los términos "halo" o "halógeno", por sí mismos o como parte de otro sustituyente, significan, a menos que se indique otra cosa, un átomo de flúor, cloro, bromo o yodo. Además, se pretende que términos, tales como "haloalquilo", incluyan monohaloalquilo y polihaloalquilo. Por ejemplo, se pretende que la expresión "haloalquilo C_{1-4} " incluya trifluorometilo, 2,2,2-trifluoroetilo, 4-clorobutilo, 3-bromopropilo y similares.

El término "arilo" significa, a menos que se indique otra cosa, un grupo hidrocarburo poliinsaturado, típicamente aromático, que puede ser un solo anillo o múltiples anillos (hasta tres anillos) que están condensados entre sí o enlazados covalentemente. El término "heteroarilo" se refiere a grupos arilo (o anillos) que contienen de uno a cinco

heteroátomos seleccionados entre N, O y S, en los que los átomos de nitrógeno y azufre están opcionalmente oxidados, y uno o más de los átomos de nitrógeno están opcionalmente cuaternizados. Un grupo heteroarilo puede estar unido al resto de la molécula a través de un heteroátomo. Los ejemplos no limitantes de grupos arilo incluyen fenilo, naftilo y bifenilo, mientras que los ejemplos no limitantes de grupos heteroarilo incluyen piridilo, piridazinilo, pirazinilo, pirimidinilo, triazinilo, quinolinilo, quinoxalinilo, quinazolinilo, cinnolinilo, ftalazinilo, benzotriazinilo, purinilo, benzoimidazolilo, benzopirazolilo, benzotriazolilo, benzoisoxazolilo, isobenzofurilo, isoindolilo, indolizínilo, benzotriazinilo, tienopiridinilo, tienopirimidinilo, pirazolopirimidinilo, imidazopiridinas, benzotiazolilo, benzofuranilo, benzotienilo, indolilo, quinolilo, isoquinolilo, isotiazolilo, pirazolilo, indazolilo, pteridinilo, imidazolilo, triazolilo, tetrazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, tiadiazolilo, pirrolilo, tiazolilo, furilo, tienilo y similares. Se seleccionan sustituyentes para cada uno de los sistemas de anillo arilo y heteroarilo mencionados anteriormente entre el grupo de sustituyentes aceptables que se describe más adelante.

El término "arilalquilo" pretende incluir aquellos radicales en los que un grupo arilo está unido a un grupo alquilo (por ejemplo, bencilo, fenetilo y similares). De forma análoga, la expresión "heteroaril-alquilo" pretende incluir aquellos radicales en los que un grupo heteroarilo está unido a un grupo alquilo (por ejemplo, piridilmetilo, tiazoliletilo y similares).

Los términos anteriores (por ejemplo, "alquilo", "arilo" y "heteroarilo"), en algunas realizaciones, incluirán formas sustituidas e insustituidas del radical indicado. Más adelante se proporcionan sustituyentes preferidos para cada tipo de radical.

Los sustituyentes para los radicales alquilo (incluyendo aquellos grupos denominados frecuentemente alquilenilo, alquenilo, alquinilo y cicloalquilo) pueden ser una diversidad de grupos seleccionados entre: -halógeno, -OR', -NR'R'', -SR', -SiR'R''R''', -OC(O)R', -C(O)R', -CO₂R', -CONR'R'', -OC(O)NR'R'', -NR''C(O)R', -NR'-C(O)NR''R'', -NR''C(O)₂R', -NH-C(NH₂)=NH, -NR'C(NH₂)=NH, -NH-C(NH₂)=NR', -S(O)R', -S(O)₂R', -S(O)₂NR'R'', -NR'S(O)₂R'', -CN y -NO₂ en un número que varía de cero a (2m' + 1), donde m' es el número total de átomos de carbono en dicho radical. Cada R', R'' y R''' se refiere independientemente a hidrógeno, alquilo C₁₋₈ sin sustituir, arilo sin sustituir, arilo sustituido con 1-3 halógenos, alquilo C₁₋₈ sin sustituir, grupos alcoxi C₁₋₈ o tioalcoxi C₁₋₈, o grupos aril-alquilo C₁₋₄ sin sustituir. Cuando R' y R'' están unidos al mismo átomo de nitrógeno, pueden combinarse con el átomo de nitrógeno para formar un anillo de 3, 4, 5, 6 o 7 miembros. Por ejemplo, se pretende que -NR'R'' incluya 1-pirrolidinilo y 4-morfolinilo.

De forma análoga, los sustituyentes para los grupos arilo y heteroarilo son variados y se seleccionan generalmente entre: -halógeno, -OR', -OC(O)R', -NR'R'', -SR', -R', -CN, -NO₂, -CO₂R', -CONR'R'', -C(O)R', -OC(O)NR'R'', -NR''C(O)R', -NR''C(O)₂R', -NR'-C(O)NR''R'', -NH-C(NH₂)=NH, -NR'C(NH₂)=NH, -NH-C(NH₂)=NR', -S(O)R', -S(O)₂R', -S(O)₂NR'R'', -NR'S(O)₂R'', -N₃, perfluoro-alcoxi (C₁-C₄) y perfluoro-alquilo (C₁-C₄), en un número que varía de cero al número total de valencias abiertas en el sistema de anillo aromático; y en los que R', R'' y R''' se seleccionan independientemente entre hidrógeno, alquilo C₁₋₈, haloalquilo C₁₋₈, cicloalquilo C₃₋₆, alquenilo C₂₋₈, alquinilo C₂₋₈, arilo sin sustituir y heteroarilo, (arilo sin sustituir)-alquilo C₁₋₄ y ariloxi-alquilo C₁₋₄ sin sustituir. Otros sustituyentes adecuados incluyen cada uno de los sustituyentes arilo anteriores unidos a un átomo del anillo mediante un éter alquilenilo de 1-4 átomos de carbono.

Dos de los sustituyentes en átomos adyacentes del anillo arilo o heteroarilo pueden estar opcionalmente reemplazados por un sustituyente de la fórmula -T-C(O)-(CH₂)_q-U-, en la que T y U son independientemente -NH-, -O-, -CH₂- o un enlace sencillo, y q es un número entero de 0 a 2. Como alternativa, dos de los sustituyentes en átomos adyacentes del anillo arilo o heteroarilo pueden estar opcionalmente reemplazados por un sustituyente de la fórmula -A-(CH₂)_r-B-, en la que A y B son independientemente -CH₂-, -O-, -NH-, -S-, -S(O)-, -S(O)₂-, -S(O)₂NR'- o un enlace sencillo, y r es un número entero de 1 a 3. Uno de los enlaces simples del nuevo anillo así formado puede estar opcionalmente reemplazado por un doble enlace. Como alternativa, dos de los sustituyentes en átomos adyacentes del anillo arilo o heteroarilo pueden estar opcionalmente reemplazados por un sustituyente de la fórmula -(CH₂)_s-X-(CH₂)_t-, en la que s y t son independientemente números enteros de 0 a 3, y X es -O-, -NR'-, -S-, -S(O)-, -S(O)₂- o -S(O)₂NR'-. El sustituyente R' en -NR'- y -S(O)₂NR'- se selecciona entre hidrógeno o alquilo C₁₋₆ sin sustituir.

Como se usa en la presente memoria, el término "heteroátomo" pretende incluir oxígeno (O), nitrógeno (N), azufre (S) y silicio (Si).

La expresión "sales farmacéuticamente aceptables" pretende incluir sales de los compuestos activos que se preparan con ácidos o bases relativamente no tóxicos, dependiendo de los sustituyentes particulares encontrados en los compuestos descritos en el presente documento. Cuando compuestos de la presente invención contienen funcionalidades relativamente ácidas, pueden obtenerse sales de adición de bases, poniendo en contacto la forma neutra de dichos compuestos con una cantidad suficiente de la base deseada, tanto pura como en un disolvente inerte adecuado. Los ejemplos de sales obtenidas a partir de bases inorgánicas farmacéuticamente aceptables incluyen aluminio, amonio, calcio, cobre, férricas, ferrosas, litio, magnesio, mangánicas, manganosas, de potasio, sodio, cinc y similares. Las sales obtenidas a partir de bases orgánicas farmacéuticamente aceptables incluyen sales de aminas primarias, secundarias y terciarias, incluyendo aminas sustituidas, aminas cíclicas, aminas de origen natural y similares, tales como arginina, betaína, cafeína, colina, N,N'-dibenciletildiamina, dietilamina, 2-dietilaminoetanol, 2-dimetilaminoetanol, etanolamina, etilendiamina, N-etilmorfolina, N-etilpiperidina, glucamina, glucosamina, histidina,

hidrabamina, isopropilamina, lisina, metilglucamina, morfolina, piperazina, piperidina, resinas de poliamina, procaína, purinas, teobromo, trietilamina, trimetilamina, tripropilamina, trometamina y similares. Cuando compuestos de la presente invención contienen funcionalidades relativamente básicas, pueden obtenerse sales de adición de ácidos, poniendo en contacto la forma neutra de dichos compuestos con una cantidad suficiente del ácido deseado, tanto puro como en un disolvente inerte adecuado. Los ejemplos de sales de adición de ácidos farmacéuticamente aceptables incluyen las obtenidas a partir de ácidos inorgánicos, como ácido clorhídrico, bromhídrico, nítrico, carbónico, monohidrogenocarbónico, fosfórico, monohidrógenofosfórico, dihidrógenofosfórico, sulfúrico, monohidrógenosulfúrico, yodhídrico o fosforoso y similares, así como las sales obtenidas a partir de ácidos orgánicos relativamente no tóxicos, como acético, propiónico, isobutírico, malónico, benzoico, succínico, subérico, fumárico, mandélico, ftálico, bencenosulfónico, p-tolilsulfónico, cítrico, tartárico, metanosulfónico y similares. También se incluyen sales de aminoácidos, tales como arginato y similares, y sales de ácidos orgánicos, como ácidos glucurónico o galactunórico y similares (véase, por ejemplo, Berge, S.M., et al, "Pharmaceutical Salts", Journal of Pharmaceutical Science, 1977, 66, 1-19). Determinados compuestos específicos de la presente invención contienen funcionalidades tanto básicas como ácidas que permiten a los compuestos convertirse en sales de adición tanto de bases como de ácidos.

Las formas neutras de los compuestos pueden regenerarse poniendo en contacto la sal con una base o ácido, y aislando el compuesto precursor de la manera convencional. La forma precursora del compuesto se diferencia de las diversas formas de sal en determinadas propiedades físicas, tales como solubilidad en disolventes polares, pero por lo demás, las sales son equivalentes a la forma precursora del compuesto para los propósitos de la presente invención.

Además de formas de sal, la presente invención describe compuestos que están en forma de un profármaco. Son profármacos de los compuestos descritos en el presente documento, aquellos compuestos que experimentan fácilmente cambios químicos en condiciones fisiológicas para proporcionar los compuestos de la presente invención. Además, los profármacos pueden convertirse en los compuestos de la presente invención por métodos químicos o bioquímicos en un entorno *ex vivo*. Por ejemplo, los profármacos pueden convertirse lentamente en los compuestos de la presente invención cuando se colocan en un reservorio de parche transdérmico con una enzima o reactivo químico adecuado.

Determinados compuestos de la presente invención pueden existir en formas no solvatadas, así como en formas solvatadas, incluyendo formas hidratadas. En general, las formas solvatadas son equivalentes a las formas sin solvatar y se pretende que estén dentro del alcance de la presente invención. Determinados compuestos de la presente invención pueden existir en múltiples formas cristalinas o amorfas. En general, todas las formas físicas son equivalentes para los usos contemplados por la presente invención y se pretende que estén dentro del alcance de la presente invención.

Determinados compuestos de la presente invención poseen átomos de carbono asimétricos (centros ópticos) o dobles enlaces; se pretende que todos los racematos, diastereómeros, isómeros geométricos, regioisómeros e isómeros individuales (por ejemplo, enantiómeros separados) estén incluidos dentro del alcance de la presente invención. Los compuestos de la presente invención también pueden contener proporciones no naturales de isótopos atómicos en uno o más de los átomos que constituyen dichos compuestos. Proporciones no naturales de un isótopo, puede definirse como que varían, desde la cantidad que se encuentra en la naturaleza a una cantidad que consiste en 100 % del átomo en cuestión. Por ejemplo, los compuestos pueden incorporar isótopos radioactivos, tales como, por ejemplo, tritio (^3H), yodo-125 (^{125}I) o carbono-14 (^{14}C), o isótopos no radioactivos, tales como deuterio (^2H) o carbono-13 (^{13}C). Tales variaciones isotópicas pueden proporcionar utilidades adicionales a las descritas en cualquier otra parte con la presente solicitud. Por ejemplo, variantes isotópicas de los compuestos de la invención pueden encontrar utilidad adicional, incluyendo, pero sin limitación, como reactivos de diagnóstico y/o formación de imágenes, o como agentes terapéuticos citotóxicos/radiotóxicos. Además, variantes isotópicas de los compuestos de la invención pueden tener características farmacocinéticas y farmacodinámicas alteradas que pueden contribuir a una seguridad, tolerabilidad o eficacia mejoradas durante el tratamiento. Se pretende que todas las variaciones isotópicas de los compuestos de la presente invención, tanto radioactivas como no, estén incluidas dentro del alcance de la presente invención.

"ChemR23" también citada como "QuemerinaR", "CMKLR1" o "DEZ" se refiere a un receptor acoplado a proteína G (GPCR) de siete dominios transmembrana.

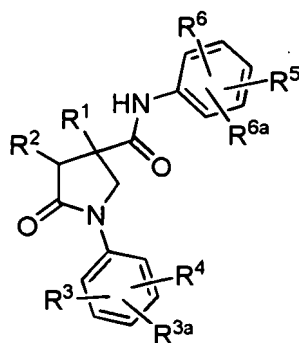
II. General

Los compuestos de la presente invención pueden inhibir la unión de ligandos al receptor ChemR23 y son útiles en el tratamiento de varias enfermedades, incluyendo psoriasis, esclerosis múltiple, y síndrome metabólico.

III. Realizaciones de la invención

A. Compuestos

En un aspecto, la presente invención proporciona un compuesto que tiene la fórmula:



(I)

o un estereoisómero, rotámero o una variante enriquecida isotópicamente del mismo, en la que

R^1 es un miembro seleccionado entre el grupo que consiste en hidroxilo, alquilo C_{1-8} , alqueno C_{2-8} , alcoxi C_{1-8} , alcoxi C_{1-8} -alquilo C_{1-8} , haloalquilo C_{1-8} , hidroxialquilo C_{1-8} , cicloalquilo C_{3-8} , cicloheteroalquilo C_{3-8} , cicloalquil C_{3-8} -alquilo C_{1-3} , cicloheteroalquil C_{3-8} -alquilo C_{1-3} , heteroarilo, heteroaril-alquilo C_{1-4} , ariloxialquilo C_{1-4} , aril-alcoxi C_{1-2} -alquilo C_{1-4} , $-NR^aR^b$ y R^aR^bN -alquilo C_{1-4} , donde cada uno de R^a y R^b se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en H, alquilo C_{1-8} , cicloalquilo C_{3-8} , haloalquilo C_{1-8} , cicloheteroalquilo C_{3-8} , alcoxi C_{1-8} -alquilo C_{1-8} , mono- o di-(alquil C_{1-4})amino-alquilo C_{1-4} e hidroxialquilo C_{1-8} , o R^a y R^b se combinan con el nitrógeno al que cada uno está unido para formar un anillo de 4 a 7 miembros que tiene opcionalmente un O o N adicional como un miembro del anillo y está opcionalmente sustituido con 1 a 4 sustituyentes seleccionados entre el grupo que

consiste en hidroxilo, halógeno, alquilo C_{1-4} y haloalquilo C_{1-4} ;

R^2 es un miembro seleccionado entre el grupo que consiste en H, alquilo C_{1-8} , alqueno C_{2-8} ; u opcionalmente, R^1 y R^2 se combinan para formar un anillo de cuatro a seis miembros condensado al anillo pirrolidinona y que tiene al menos un heteroátomo de vértice de anillo seleccionado entre el grupo que consiste en O, S y N;

R^3 y R^{3a} son cada uno miembros seleccionados entre el grupo que consiste en H, halógeno, alquilo C_{1-4} , alqueno C_{2-6} , cicloalquilo C_{3-6} , cicloheteroalquilo C_{3-8} , cicloalquil C_{3-8} -alquilo C_{1-3} y cicloheteroalquil C_{3-8} -alquilo C_{1-3} ;

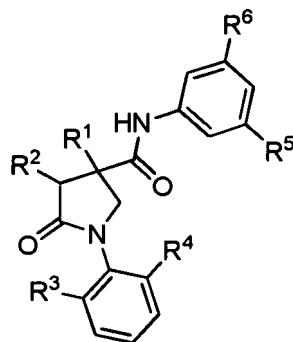
R^4 es un miembro seleccionado entre el grupo que consiste en H, halógeno, alquilo C_{1-4} , alqueno C_{2-6} , hidroxialquilo C_{1-4} , alcoxi C_{1-4} , alcoxi C_{1-4} -alquilo C_{1-4} , haloalquilo C_{1-6} y mono- o di-(alquil C_{1-4})amino;

R^5 es un miembro seleccionado entre el grupo que consiste en CF_3 , halógeno, ciano, alquilo C_{1-4} , alqueno C_{2-6} , hidroxialquilo C_{1-4} , alcoxi C_{1-5} , alcoxi C_{1-4} -alquilo C_{1-4} , alcoxi C_{1-4} -alcoxi C_{1-4} , cicloalquilo C_{3-8} , cicloalquiloxi C_{3-8} , cicloheteroalquilo C_{3-8} , cicloheteroalquil C_{3-8} -alquilo C_{1-3} y mono- o di-(alquil C_{1-4})amino;

R^6 y R^{6a} con cada uno miembros seleccionados entre el grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, ciano, alquilo C_{1-4} , haloalquilo C_{1-4} , alqueno C_{2-6} , hidroxialquilo C_{1-4} , alcoxi C_{1-5} , alcoxi C_{1-4} -alquilo C_{1-4} , alcoxi C_{1-4} -alcoxi C_{1-4} , cicloalquilo C_{3-8} , cicloalquiloxi C_{3-8} , cicloheteroalquilo C_{3-8} , cicloheteroalquil C_{3-8} -alquilo C_{1-3} y mono- o di-(alquil C_{1-4})amino; en el que cualquiera de las porciones R^1 , R^2 , R^3 , R^{3a} , R^4 , R^5 , R^6 y R^{6a} , incluyendo los anillos condensados, están opcionalmente sustituidas con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en halógeno, alquilo C_{1-4} , bencilo, oxo y alcocarbonilo C_{1-6} , y cualquiera de las porciones cicloalquilo y cicloheteroalquilo tienen opcionalmente un doble enlace entre los vértices del anillo;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En un grupo de realizaciones, se proporcionan compuestos que tienen la Fórmula Ia:



(Ia)

o un estereoisómero, rotámero o una variante enriquecida isotópicamente de los mismos, en la que R^3 , R^4 y R^5 tienen los mismos significados proporcionados en la reivindicación 1;

R^1 es un miembro seleccionado entre el grupo que consiste en hidroxilo, alquilo C_{1-8} , alqueno C_{2-8} , alcoxi C_{1-8} ,

alcoxi C₁₋₈-alquilo C₁₋₈, haloalquilo C₁₋₈, hidroxialquilo C₁₋₈, cicloalquilo C₃₋₈, cicloheteroalquilo C₃₋₈, cicloalquil C₃₋₈-alquilo C₁₋₃, cicloheteroalquil C₃₋₈-alquilo C₁₋₃, heteroarilo, heteroaril-alquilo C₁₋₄, ariloxi-alquilo C₁₋₄, aril-alcoxi C₁₋₂-alquilo C₁₋₄, -NR^aR^b y R^aR^bN-alquilo C₁₋₄;

R² es un miembro seleccionado entre el grupo que consiste en H, alquilo C₁₋₈, alquenilo C₂₋₈;

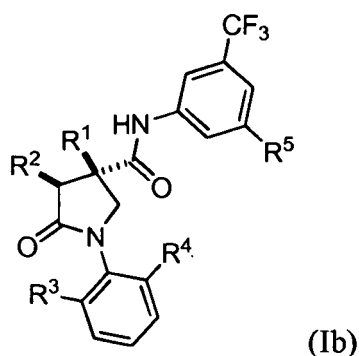
u opcionalmente, R¹ y R² se combinan para formar un anillo de cuatro a seis miembros condensado al anillo pirrolidinona y que tiene al menos un heteroátomo de vértice de anillo seleccionado entre el grupo que consiste en O, S y N;

R⁶ es CF₃; o

una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

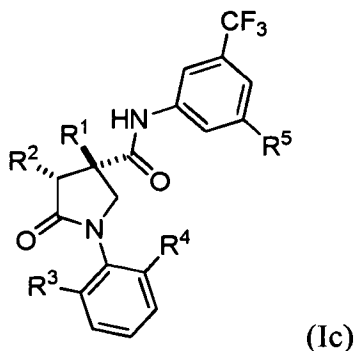
En una realización, los compuestos de Fórmula la son aquellos compuestos en los que R³ es metilo. En otra realización, R³ es metilo y R⁴ es H o alquilo C₁₋₄. En otra realización más, R² es H o alquilo C₁₋₈, R³ es metilo y R⁴ es H o alquilo C₁₋₄. En otra realización más, R⁵ es CF₃. En un grupo de realizaciones selecto, los compuestos de Fórmula la son los compuestos en los que R³ es metilo y R⁵ es CF₃.

En otro grupo de realizaciones, los compuestos de Fórmula la son aquellos representados por la Fórmula Ib,



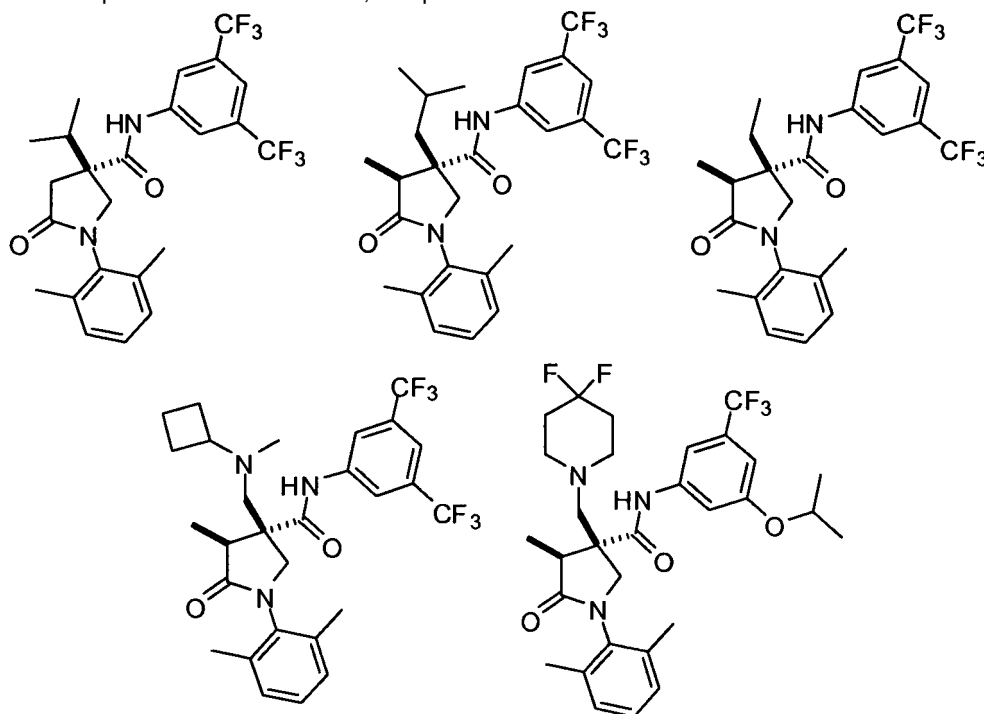
en la que R¹, R², R³, R⁴ y R⁵ tienen los significados proporcionados con referencia a la Fórmula Ia. Dentro de las realizaciones de Fórmula Ib, un grupo seleccionado de compuestos es aquel en el que R¹ se selecciona entre -NR^aR^b y R^aR^bN-alquilo C₁₋₄. En otra realización seleccionada, R¹ es -NR^aR^b. En otra realización seleccionada, R¹ es R^aR^bN-alquilo C₁₋₄. En otras realizaciones, R³ y R⁴ son cada uno metilo. En otro grupo seleccionado de compuestos, R⁵ es CF₃, CN o ciclopropilo. En otro grupo de realizaciones de Fórmula Ib, R¹ es mono- o di-(alquil C₁₋₄)amino-alquilo C₁₋₄, y R³ es metilo. Son particularmente preferidos los compuestos donde R¹ es di(alquil C₁₋₄)aminometilo. En otro grupo más de realizaciones de Fórmula Ib, R² y R³ son cada uno metilo.

En otro grupo de realizaciones, se proporcionan compuestos que tienen la Fórmula Ic:



en la que R¹, R², R³, R⁴ y R⁵ tienen los significados proporcionados con referencia a la Fórmula Ia. En un grupo seleccionado de realizaciones de Fórmula Ic, R² es H, y R³ y R⁴ son cada uno metilo. En otro grupo seleccionado de realizaciones, R⁵ es CF₃.

Son realizaciones específicas de la invención, compuestos seleccionados entre



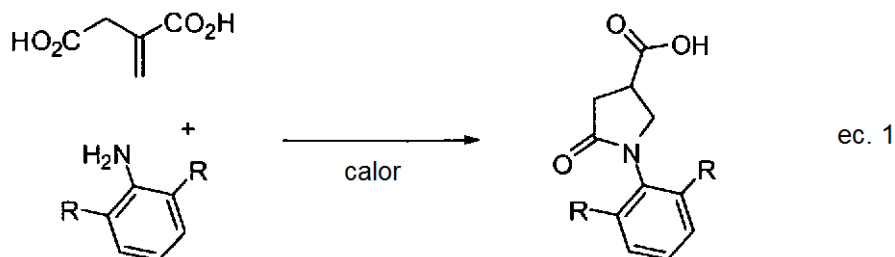
- 5 Son otras realizaciones seleccionadas más, cualquiera de los compuestos proporcionados en la Figura 1.

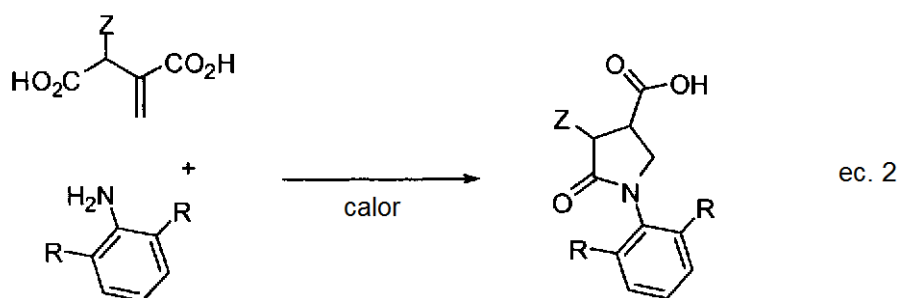
Preparación de Compuestos

- 10 Determinados compuestos de la invención pueden prepararse siguiendo una metodología como se describe a continuación. También pueden prepararse compuestos como se muestra en los procedimientos sintéticos indicados en la sección de Ejemplos del presente documento. Además, más adelante se describen la síntesis de determinados compuestos intermedios que son útiles en la preparación de compuestos de la invención.

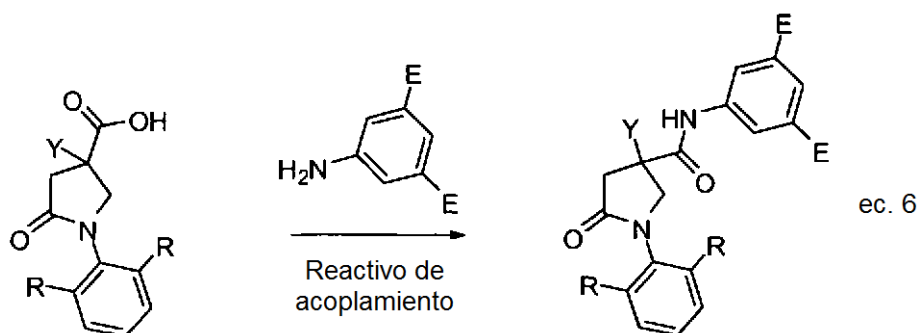
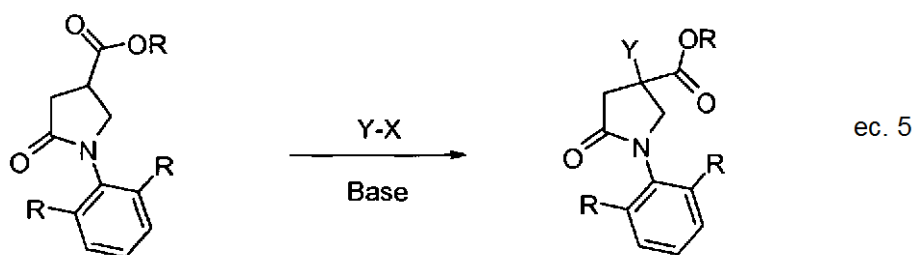
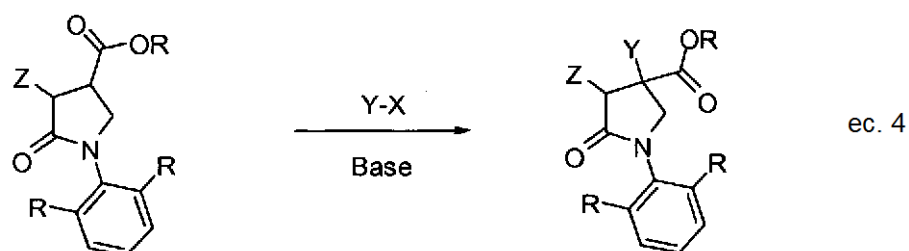
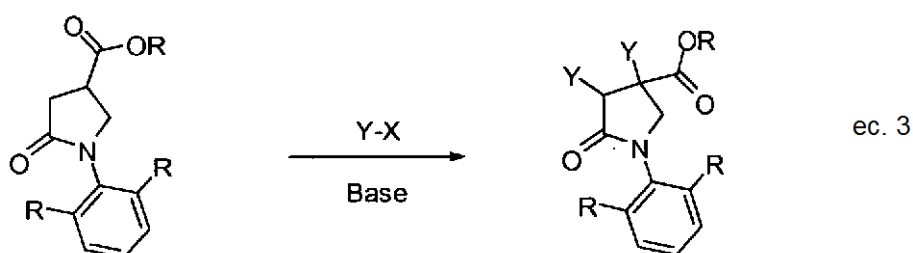
- 15 Los expertos en la materia reconocerán que existe una diversidad de procedimientos disponibles para sintetizar moléculas representadas en las reivindicaciones. En general, los métodos útiles para sintetizar compuestos representados en las reivindicaciones consisten en cuatro partes, que pueden realizarse en cualquier orden: formación del anillo pirrolidinona, instalación de los sustituyentes en C3 y C4 del anillo pirrolidinona, formación del enlace anilina amida e instalación y/o modificación de grupos funcionales en los diversos sustituyentes.

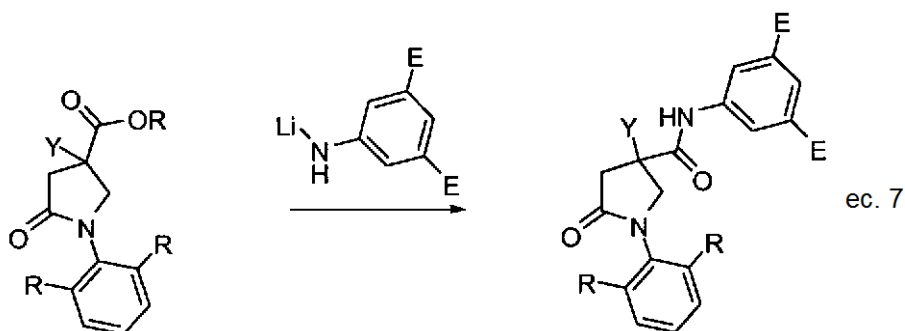
- 20 A continuación, se muestran varios métodos para la preparación de compuestos reivindicados (ec. 1-7).





5 Las ecuaciones 1-2 demuestran algunos métodos de formación del anillo pirrolidinona. Las ecuaciones 3-5 demuestran métodos para introducir una sustitución en el anillo mediante tratamiento con una base, seguido de alquilación con electrófilos adecuados. Después, la conversión del éster en la anilina correspondiente da como resultado los compuestos de la invención (ecuaciones 6 y 7).





Se ha usado una diversidad de los métodos descritos anteriormente para preparar los compuestos de la invención, algunos de los cuales se describen en los ejemplos.

B. Composiciones

Además de los compuestos proporcionados anteriormente, las composiciones para modular la actividad de ChemR23 en seres humanos y animales contiene típicamente un vehículo o diluyente farmacéutico.

El término "composición", tal como se usa en el presente documento, pretende abarcar un producto que comprende los ingredientes especificados en las cantidades especificadas, así como cualquier producto que sea el resultado, directa o indirectamente, de la combinación de los ingredientes especificados en las cantidades especificadas. La expresión "farmacéuticamente aceptable" significa que el vehículo, diluyente o excipiente debe ser compatible con los otros ingredientes de la formulación y no perjudicial para su destinatario.

Las composiciones farmacéuticas para la administración de los compuestos de esta invención pueden presentarse convenientemente en forma de dosis unitaria y pueden prepararse mediante cualquiera de los métodos bien conocidos en la técnica de farmacia y de administración de fármacos. Todos los métodos incluyen la etapa de asociar el principio activo con el vehículo que consta de uno o más ingredientes accesorios. En general, las composiciones farmacéuticas se preparan asociando de manera uniforme e íntima el principio activo con un vehículo líquido o un vehículo sólido finamente dividido o ambos, y después, en caso necesario, dar forma al producto en la formulación deseada. En la composición farmacéutica el compuesto activo objeto se incluye en una cantidad suficiente para producir el efecto deseado sobre el proceso o estado de enfermedad.

Las composiciones farmacéuticas que contiene al principio activo pueden estar en una forma adecuada para uso oral, por ejemplo, como comprimidos, trociscos, pastillas para chupar, suspensiones acuosas u oleosas, polvos o gránulos dispersables, emulsiones y autoemulsiones tal como se describe en la Solicitud de Patente de los Estados Unidos N° 2002-0012680, cápsulas duras o blandas, jarabes, elixires, soluciones, parches bucales, geles orales, chicles, comprimidos masticables, polvos efervescentes y comprimidos efervescentes. Las composiciones destinadas a uso oral pueden prepararse de acuerdo con cualquier método conocido en la técnica para la fabricación de composiciones farmacéuticas, y dichas composiciones pueden contener uno o más agentes seleccionados del grupo que consiste en agentes edulcorantes, agentes aromatizantes, agentes colorantes, agentes antioxidantes y conservantes para proporcionar preparaciones farmacéuticamente elegantes y sabrosas. Los comprimidos contienen al principio activo mezclado con excipientes no tóxicos farmacéuticamente aceptables que son adecuados para la fabricación de comprimidos. Estos excipientes pueden ser, por ejemplo, diluyentes inertes, tales como celulosa, dióxido de silicio, óxido de aluminio, carbonato de calcio, carbonato de sodio, glucosa, manitol, sorbitol, lactosa, fosfato de calcio o fosfato de sodio; agentes granulantes y disgregantes, por ejemplo, almidón de maíz, o ácido alginico; agentes aglutinantes, por ejemplo, PVP, celulosa, PEG, almidón, gelatina o goma arábica, y agentes lubricantes, por ejemplo, estearato de magnesio, ácido esteárico o talco. Los comprimidos pueden no estar recubiertos o pueden estar recubiertos, entéricamente o de otro modo, mediante técnicas conocidas para retrasar la disgregación y absorción en el tracto gastrointestinal y de este modo proporcionar una acción sostenida durante un periodo mayor. Por ejemplo, puede emplearse un material retardante, tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo. También pueden recubrirse mediante las técnicas descritas en las Patentes de los Estados Unidos N° 4.256.108, 4.166.452; y 4.265.874 para formar comprimidos terapéuticos osmóticos para liberación controlada.

Las formulaciones para uso oral también pueden presentarse como cápsulas de gelatina dura, en las que el principio activo se mezcla con un diluyente sólido inerte, por ejemplo, carbonato cálcico, fosfato de calcio o caolín, o como cápsulas de gelatina blanda, donde el principio activo se mezcla con agua o un medio oleoso, por ejemplo, aceite de cacahuete, parafina líquida, o aceite de oliva. Adicionalmente, pueden prepararse emulsiones con un ingrediente no miscible en agua, tal como aceites y estabilizantes con tensioactivos, tales como monodiglicéridos, ésteres de PEG y similares.

Las suspensiones acuosas contienen a los materiales activos mezclados con excipientes adecuados para la fabricación de suspensiones acuosas. Dichos excipientes son agentes de suspensión, por ejemplo,

carboximetilcelulosa de sodio, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, alginato sódico, polivinilpirrolidona, goma tragacanto y goma arábiga; los agentes disgregantes o humectantes pueden ser una fosfatida de origen natural, por ejemplo, lecitina, o productos de condensación de un óxido de alquileño con ácidos grasos, por ejemplo, estearato de polioxietileno, o productos de condensación de óxido de etileno con alcoholes alifáticos de cadena larga, por ejemplo, heptadecaetilenoxicetanol, o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y hexitol, tales como monooleato de polioxietileno y sorbitol, o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, por ejemplo, monooleato de polietileno y sorbitán. Las suspensiones acuosas también pueden contener uno o más conservantes, por ejemplo, p-hidroxibenzoato de etilo o de n-propilo, uno o más agentes colorantes, uno o más agentes aromatizantes, y uno o más agentes edulcorantes, tales como sacarosa o sacarina.

Las suspensiones oleosas pueden formularse suspendiendo al principio activo en un aceite vegetal, por ejemplo, aceite de cacahuete, aceite de oliva, aceite de sésamo o aceite de coco, o en un aceite mineral, tal como parafina líquida. Las suspensiones oleosas pueden contener un agente espesante, por ejemplo, cera de abeja, parafina dura o alcohol cetílico. Los agentes edulcorantes pueden ser tales como los expuestos anteriormente, y los agentes aromatizantes pueden añadirse para proporcionar una preparación oral sabrosa. Estas composiciones pueden conservarse mediante la adición de un antioxidante, tal como ácido ascórbico.

Los polvos y gránulos dispersables adecuados para la preparación de suspensión acuosa añadiendo agua proporcionan al principio activo mezclado con un agente de dispersión o humectante, un agente de suspensión y uno o más conservantes. Los agentes dispersantes o humectantes y los agentes de suspensión se ilustran por aquellos ya mencionados anteriormente. Pueden estar presentes excipientes adicionales, por ejemplo, agentes edulcorantes, aromatizantes y colorantes.

Las composiciones farmacéuticas de la invención también pueden estar en forma de emulsiones de aceite en agua. La fase oleosa puede ser un aceite vegetal, por ejemplo, aceite de oliva o aceite de cacahuete, o un aceite mineral, por ejemplo, parafina líquida o mezclas de estas. Los agentes emulsionantes adecuados pueden ser gomas de origen natural, por ejemplo, goma arábiga o goma tragacanto, fosfatidas de origen natural, por ejemplo, soja, lecitina, y ésteres o ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, por ejemplo, monooleato de sorbitán, y productos de condensación de dichos ésteres parciales con óxido de etileno, por ejemplo, monooleato de polioxietileno y sorbitán. Las emulsiones también pueden contener agentes edulcorantes y aromatizantes.

Los jarabes y elixires pueden formularse con agentes edulcorantes, por ejemplo, glicerol, propilenglicol, sorbitol o sacarosa. Dichas formulaciones pueden contener un emoliente, un conservante y agentes aromatizantes y colorantes. Las soluciones orales pueden prepararse en combinación con, por ejemplo, ciclodextrina, PEG y tensioactivos.

Las composiciones farmacéuticas pueden estar en forma de suspensión inyectable acuosa u oleaginosa. Esta suspensión puede formularse de acuerdo con la técnica conocida usando aquellos agentes dispersantes o humectantes adecuados y agentes de suspensión que se han mencionado anteriormente. La preparación inyectable estéril puede ser también una solución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o disolvente no tóxico parenteralmente aceptable, por ejemplo, como una solución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y disolventes aceptables que pueden emplearse se encuentran agua, solución de Ringer y solución de cloruro de sodio isotónica. Además, se emplean aceites estériles no volátiles como disolvente o medio de suspensión. Para este fin, puede usarse cualquier aceite suave no volátil incluyendo mono o diglicéridos sintéticos. Además, pueden ser útiles ácidos grasos, tales como ácido oleico, en la preparación de inyectables.

Los compuestos de la presente invención también pueden administrarse en forma de supositorios para administración rectal del fármaco. Estas composiciones pueden prepararse mezclando el fármaco con un excipiente no irritante adecuado que es sólido a temperaturas normales, pero líquido a temperatura rectal y por lo tanto se derretirá en el recto para liberar el fármaco. Dichos materiales incluyen manteca de cacao y polietilenglicoles. Adicionalmente, los compuestos pueden administrarse por dispensación ocular mediante soluciones o pomadas. Además, pueden lograrse la administración transdérmica de los compuestos objeto mediante parches iontoforéticos y similares. Para uso tópico, se emplean cremas, pomadas, gelatinas, soluciones o suspensiones, etc., que contienen los compuestos de la presente invención. Tal como se usa en el presente documento, la administración tópica también pretende incluir el uso de enjuagues y gargarismos bucales.

Los compuestos de esta invención también pueden acoplarse a un vehículo que es un polímero adecuado como vehículos para fármacos dirigibles. Dichos polímeros pueden incluir polivinilpirrolidona, copolímero de pirano, polihidroxi-propilo-metacrilamida-fenol, polihidroxi-etil-aspartamida-fenol, u óxido de polietileno-polilisina sustituida con restos de palmitoilo. Además, los compuestos de la invención pueden acoplarse a un vehículo que es una clase de polímero biodegradable útil para lograr la liberación controlada de un fármaco, por ejemplo, ácido poliláctico, ácido poliglicólico, copolímeros de ácido poliláctico y poliglicólico, poliépsilon caprolactona, ácido polihidroxibutírico, poliortoésteres, poliacetales, polihidropiranos, policianocrilatos y copolímeros de bloque reticulados o anfipáticos de hidrogeles. Los polímeros y matrices poliméricas semipermeables pueden formarse en artículos conformados, tales como válvulas, endoprótesis vasculares, tubos, prótesis y similares.

C. Métodos de uso

Aunque no se desea estar ligado por ninguna teoría en particular, se considera que los productos y composiciones de la presente invención proporcionan un efecto terapéutico uniéndose al receptor ChemR23. Por lo tanto, los compuestos y composiciones de la presente invención pueden usarse en el tratamiento o prevención de enfermedades o trastornos en un mamífero en el que la inhibición de la unión del ligando natural al receptor ChemR23 puede proporcionar un efecto terapéutico.

En una realización, un método preferido de inhibir la unión de los ligandos de quimiocina a un receptor ChemR23 incluye poner en contacto uno o más de los compuestos anteriormente mencionados con una célula que expresa el receptor ChemR23 durante un tiempo suficiente para inhibir la unión de los ligandos de quimiocina naturales al receptor ChemR23.

En algunas realizaciones, los compuestos y composiciones de la invención son para su administración a un sujeto que tiene una enfermedad inflamatoria de la piel. En algunos casos, los moduladores de ChemR23 son para su administración en el tratamiento de la psoriasis, lupus sistémico eritematoso, lupus discoide eritematoso, dermatomiositis, liquen plano, penfigoide bulloso, así como una disfunción cerebral o neuronal, tal como esclerosis múltiple y enfermedades desmielinizantes; artritis reumatoide; aterosclerosis; diabetes Tipo II, resistencia a la insulina, obesidad, síndrome metabólico, dislipidemia, enfermedad cardiovascular, así como otros trastornos y enfermedades descritos en el presente documento.

En el tratamiento o prevención de afecciones que necesitan la modulación del receptor de quimiocinas, un nivel de dosificación adecuado será generalmente de aproximadamente 0,001 a 100 mg por kg de peso corporal del paciente por día que pueden administrarse en una sola dosis o en dosis múltiples. Preferentemente, el nivel de dosificación será de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 25 mg/kg por día; más preferentemente, de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 10 mg/kg por día. Un nivel de dosificación adecuado puede ser de aproximadamente 0,01 a 25 mg/kg por día, de aproximadamente 0,05 a 10 mg/kg por día, o de aproximadamente 0,1 a 5 mg/kg por día. Dentro de este intervalo, la dosis puede ser de 0,005 a 0,05, de 0,05 a 0,5 o de 0,5 a 5,0 mg/kg por día. Para administración oral, las composiciones se proporcionan preferentemente en forma de comprimidos que contienen de 1,0 a 1000 miligramos del principio activo, en particular 1,0, 5,0, 10,0, 15,0, 20,0, 25,0, 50,0, 75,0, 100,0, 150,0, 200,0, 250,0, 300,0, 400,0, 500,0, 600,0, 750,0, 800,0, 900,0, y 1000,0 miligramos del principio activo para el ajuste sintomático de la dosificación al paciente que se va a tratar. Los compuestos pueden administrarse en una pauta de 1 a 4 veces al día, preferentemente una o dos veces al día.

Se entenderá, sin embargo, que el nivel de dosis y la frecuencia de las dosis específicos para cualquier paciente particular puede modificarse y dependerá de una variedad de factores que incluyen la actividad del compuesto específico empleado, la estabilidad metabólica y la duración de la acción de ese compuesto, la edad, el peso corporal, las características hereditarias, el estado de salud general, el sexo y la alimentación del sujeto, así como el modo y tiempo de administración, la velocidad de excreción, la combinación de fármacos, y la gravedad de la afección concreta para el sujeto que se someta a terapia.

Los compuestos y composiciones de la presente invención pueden combinarse con otros compuestos y composiciones que tengan utilidades relacionadas para prevenir y tratar el cáncer y enfermedades o afecciones asociadas con la señalización de ChemR23. Dichos otros fármacos pueden administrarse mediante una vía y en una cantidad usada comúnmente para estos, contemporánea o secuencialmente con un compuesto o composición de la presente invención. Cuando se usa un compuesto de la presente invención de manera contemporánea con otros uno o más fármacos, se prefiere una composición farmacéutica que contenga dichos otros fármacos además del compuesto o composición de la presente invención. Por consiguiente, las composiciones farmacéuticas de la presente invención incluyen aquellas que también contienen otros uno o más principios activos o agentes terapéuticos, además de un compuesto o composición de la presente invención. Los ejemplos de otros agentes terapéuticos que pueden combinarse con un compuesto o composición de la presente invención, ya se administren por separado o en las mismas composiciones farmacéuticas, incluyen, pero sin limitación: cisplatino, paclitaxel, metotrexato, ciclofosfamida, ifosfamida, clorambucilo, carmustina, carboplatino, vincristina, vinblastina, tiotepa, lomustina, semustina, 5-fluorouracilo y citarabina. La relación en peso del compuesto de la presente invención al segundo principio activo puede variarse y dependerá de la dosis eficaz de cada ingrediente. En general, se usará una dosis eficaz de cada uno. Por tanto, por ejemplo, cuando un compuesto de la presente invención se combina con un segundo agente anticancerígeno, la relación en peso del compuesto de la presente invención al segundo agente estará generalmente en el intervalo de aproximadamente 1000:1 a aproximadamente 1:1000, preferentemente, de aproximadamente 200:1 a aproximadamente 1:200. Las combinaciones de un compuesto de la presente invención y otros principios activos también se encontrarán generalmente dentro del intervalo anteriormente mencionado, pero en cada caso, debe usarse una dosis eficaz de cada principio activo.

Métodos para tratar la inflamación

Además, los compuestos y composiciones de la presente invención son útiles para el tratamiento de la inflamación, y pueden combinarse con otros compuestos y composiciones que tienen utilidades terapéuticas que pueden necesitar

tratamiento antes, después o simultáneamente con el tratamiento del cáncer o la inflamación con los presentes compuestos. Por consiguiente, las composiciones combinadas también son un componente de la presente invención ya que son combinaciones para su uso en un método para prevenir y tratar la afección o enfermedad de interés, tal como trastornos, afecciones y enfermedades inflamatorias o autoinmunes, incluyendo psoriasis, dermatomiositis, enfermedad inflamatoria del intestino, artritis reumatoide, artrosis, artritis psoriásica, artritis poliarticular, esclerosis múltiple, enfermedades alérgicas, dermatitis atópica y asma, y aquellas patologías indicadas anteriormente.

Por ejemplo, en el tratamiento o prevención de la inflamación o autoinmunidad o por ejemplo la artritis asociada a pérdida ósea, pueden usarse los presentes compuestos y composiciones en conjunción con un agente antiinflamatorio o analgésico, tal como un agonista opiáceo, un inhibidor de lipooxigenasa, tal como un inhibidor de 5-lipooxigenasa, un inhibidor de ciclooxigenasa, tal como un inhibidor de ciclooxigenasa-2, un inhibidor de interleucinas, tal como un inhibidor de interleucina-1, un antagonista de NMDA, un inhibidor de óxido nítrico o un inhibidor de la síntesis de óxido nítrico, un agente antiinflamatorio no esteroideo, o un agente antiinflamatorio supresor de citocinas, por ejemplo con un compuesto tal como acetaminofén, aspirina, codeína, fentanilo, ibuprofeno, indometacina, ketorolac, morfina, naproxeno, fenacetina, piroxicam, un analgésico esteroideo, sufentanilo, sunlindac, tenidap, y similares. De manera similar, los presentes compuestos y composiciones pueden administrarse con un analgésico listado anteriormente; un potenciador, tal como cafeína, un antagonista de H₂ (por ejemplo, ranitidina), simeticona, hidróxido de aluminio o magnesio; un descongestivo, tal como fenilefrina, fenilpropanolamina, pseudoefedrina, oximetazolina, epinefrina, nafazolina, xilometazolina, propilhexedrina, o levo desoxi efedrina; un antitusivo, tal como codeína, hidrocodona, caramifén, carbetapentano, o dextrometorfano; un diurético; y un antihistamínico sedante o no sedante.

Tal como se ha indicado, los compuestos y composiciones de la presente invención pueden usarse en combinación con otros fármacos que se usan en el tratamiento, prevención, supresión o mejora de las enfermedades o afecciones para las que los compuestos y composiciones de la presente invención son útiles. Dichos otros fármacos pueden administrarse mediante una vía y en una cantidad usada comúnmente para estos, contemporánea o secuencialmente con un compuesto o composición de la presente invención. Cuando se usa un compuesto de la presente invención de manera contemporánea con otros uno o más fármacos, se prefiere una composición farmacéutica que contenga dichos otros fármacos además del compuesto o composición de la presente invención. Por consiguiente, las composiciones farmacéuticas de la presente invención incluyen aquellas que también contienen otros uno o más principios activos o agentes terapéuticos, además de un compuesto o composición de la presente invención. Los ejemplos de otros agentes terapéuticos que pueden combinarse con un compuesto o composición de la presente invención, ya se administren por separado o en las mismas composiciones farmacéuticas, incluyen, pero sin limitación: (a) antagonistas de VLA-4, (b) corticoesteroides, tales como beclometasona, metilprednisolona, betametasona, prednisona, prednisolona, dexametasona, fluticasona, hidroclortisona, budesonida, triamcinolona, salmeterol, salmeterol, salbutamol, fometerol; (c) inmunosupresores, tales como ciclosporona (ciclosporina A, Sandimmune®, Neoral®), tacrolimus (FK-506, Prograf®), rapamicina (Sirolimus, Rapamune®) y otros inmunosupresores de tipo FK-506, y micofenolato, por ejemplo, micofenolato mofetilo (CellCept®); (d) antihistamínicos (antagonistas de histamina H₁) tales como bromofeniramina, clorfeniramina, dexclorfeniramina, triprolidina, clemastina, difenhidramina, difenilpiralina, tripelenamina, hidroxizina, metildiazina, prometazina, trimeprazina, azatadina, ciproheptadina, antazolina, feniramina pirilamina, astemizol, terfenadina, loratadina, cetirizina, fexofenadina, descarboetoxiloratadina, y similares; (e) anti asmáticos no esteroideos (por ejemplo, terbutalina, metaproterenol, fenoterol, isoetarina, albuterol, bitolterol y pirbuterol), teofilina, cromolin sodio, atropina, bromuro de ipratropio, antagonistas de leucotrienos (por ejemplo, zafirlukast, montelukast, pranlukast, iralukast, pobilukast y SKB-106,203), inhibidores de la biosíntesis de leucotrienos (zileuton, BAY-1005); (f) agentes antiinflamatorios no esteroideos (AINE) tales como derivados del ácido propiónico (por ejemplo, alminoprofeno, benoxaprofeno, ácido buclórico, carprofeno, fenbufeno, fenoprofeno, fluprofeno, flurbiprofeno, ibuprofeno, indoprofeno, ketoprofeno, mioprofeno, naproxeno, oxaprozina, pirprofeno, pranoprofeno, suprofeno, ácido tiaprofénico y tioapropeno), derivados de ácido acético (por ejemplo, indometacina, acemetacina, alclofenaco, clidanaco, diclofenaco, fenclofenaco, ácido fenclozico, fentiazaco, furofenaco, ibufenaco, isoxepaco, oxpinaco, sulindaco, tiopinaco, tolmetina, zidometacina y zomepiraco), derivados de ácido fenámico (por ejemplo, ácido flufenámico, ácido meclofenámico, ácido mefenámico, ácido niflúmico y ácido tolfenámico), derivados de ácido bifenilcarboxílico (por ejemplo, diflunisal y flufenisal), oxicamas (por ejemplo, isoxicam, piroxicam, sudoxicam y tenoxicam), salicilatos (por ejemplo, ácido acetil salicílico y sulfasalazina) y las pirazonas (por ejemplo, apazona, bezpiperilon, feprazona, mofebutazona, oxifenbutazona y fenilbutazona); (g) inhibidores de ciclooxigenasa-2 (COX-2) tales como celecoxib (Celebrex®) y rofecoxib (Vioxx®); (h) inhibidores de fosfodiesterasa tipo IV (PDE IV); (i) compuestos de oro, tales como auranofin y aurotioglucosa; (j) etanercept (Enbrel®), (k) terapias de anticuerpos, tales como ortoclone (OKT3), daclizumab (Zenapax®), basiliximab (Simulect®) e infliximab (Remicade®), (l) otros antagonistas de los receptores de quimiocinas, especialmente CCR5, CXCR2, CXCR3, CCR2, CCR3, CCR4, CCR7, CX₃CR1 y CXCR6; (m) lubricantes o emolientes, tales como vaselina y lanolina, (n) agentes queratolíticos (por ejemplo, tazaroteno), (o) derivados de vitamina D₃, *por ejemplo*, calcipotrieno o calcipotriol (Dovonex®), (p) PUVA, (q) antralina (Drithrocreme®), (r) etretinato (Tegison®) e isotretinoína y (s) agentes terapéuticos para la esclerosis múltiple, tales como interferón β-1β (Betaseron®), interferón β-1α (Avonex®), azatioprina (Imurek®, Imuran®), acetato de glatiramer (Capoxone®), un glucocorticoide (por ejemplo, prednisolona) y ciclofosfamida (T) DMARD, tales como metotrexato (u) otros compuestos, tales como ácido 5-aminosalicílico y profármacos del mismo; hidroxiclороquina; D-penicilamina; antimetabolitos tales como azatioprina, 6-mercaptopurina y metotrexato; inhibidores de la síntesis de ADN, tales como hidroxiurea e interruptores de microtúbulos, tales como colchicina. La relación en peso del compuesto de la presente invención al segundo principio activo puede variarse y dependerá de la dosis eficaz de cada

ingrediente. En general, se usará una dosis eficaz de cada uno. Por tanto, por ejemplo, cuando un compuesto de la presente invención se combina con un AINE, la relación en peso del compuesto de la presente invención al AINE estará generalmente en el intervalo de aproximadamente 1000:1 a aproximadamente 1:1000, preferentemente, de aproximadamente 200:1 a aproximadamente 1:200. Las combinaciones de un compuesto de la presente invención y otros principios activos también se encontrarán generalmente dentro del intervalo anteriormente mencionado, pero en cada caso, debe usarse una dosis eficaz de cada principio activo.

IV. Ejemplos

Los siguientes ejemplos se ofrecen para ilustrar, pero no para limitar la invención reivindicada.

Pueden obtenerse reactivos y disolventes usados más adelante de fuentes comerciales, tales como Aldrich Chemical Co. (Milwaukee, Wisconsin, USA). Se registraron espectros de RMN ^1H en un espectrómetro de RMN Varian Mercury 400 MHz. Se proporcionan picos significativos en relación a TMS y están tabulados en el orden: multiplicidad (s, singlete; d, doblete; t, triplete; c, cuádruplete; m, multiplete) y número de protones. Los resultados de espectrometría de masas se indican como la relación de la masa sobre la carga, seguido de la abundancia relativa de cada ion (entre paréntesis). En los ejemplos, se indica un solo valor de m/e para el ion M+H (o, según se indica, M-H) que contiene los isótopos atómicos más comunes. Los patrones isotópicos corresponden a la fórmula esperada en todos los casos. Se realizó análisis de espectrometría de masas con ionización por electronebulización (IEN) en un espectrómetro de masas de electronebulización Hewlett-Packard MSD, usando el sistema de HPLC HP1100 para la entrega de la muestra. Normalmente, el analito se disolvió en metanol a 0,1 mg/ml y se infundió 1 microlitro con el disolvente entregado en el espectrómetro de masas, que se exploró de 100 a 1500 daltons. Todos los compuestos pudieron analizarse en el modo IEN positivo, usando acetonitrilo/agua con ácido fórmico al 1 % como el disolvente de entrega. Los compuestos proporcionados más adelante también pudieron analizarse en el modo IEN negativo, usando NH_4OAc 2 mM en acetonitrilo/agua como sistema de entrega.

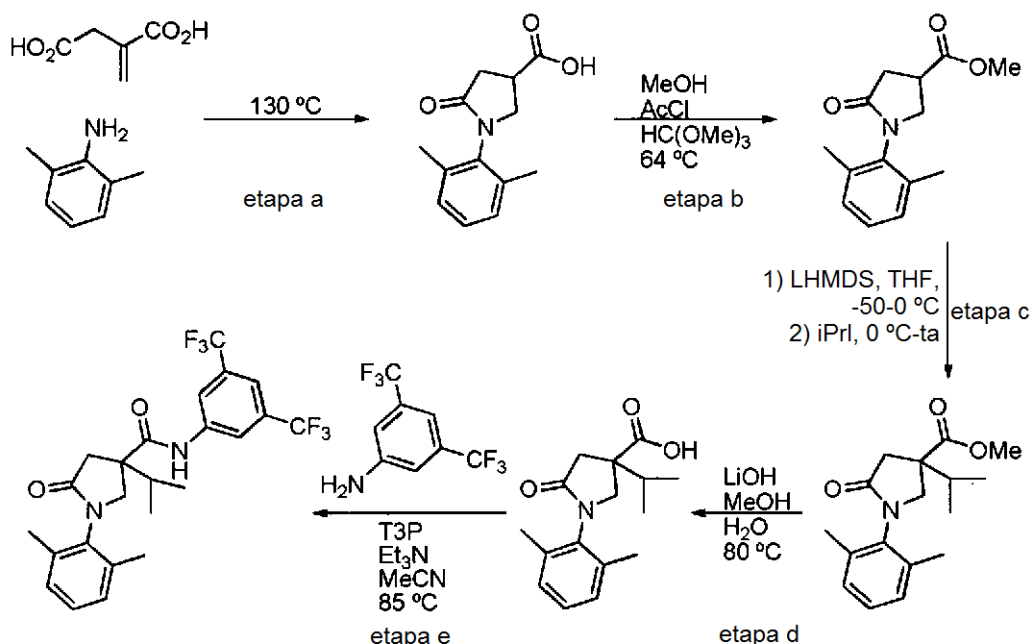
Las siguientes abreviaturas se usan en los Ejemplos y a lo largo de la descripción de la invención: ta, temperatura ambiente; HPLC, cromatografía líquida de alta presión; TFA, ácido trifluoroacético; CL-DSM, cromatografía líquida/detector selectivo de masas; CL-EM, cromatografía líquida/espectrómetro de masas; Pd_2dba_3 , tris(dibencilidenoacetona)dipaladio; THF, tetrahidrofurano; DMF, dimetilformamida o *N,N*-dimetilformamida; DCM, diclorometano; DMSO, dimetilsulfóxido; TLC, cromatografía de capa fina; KHMDs, potasio hexametildisilazano; EN, electronebulización; sat., saturado.

Pueden sintetizarse compuestos dentro del alcance de la presente invención como se describe a continuación, usando una diversidad de reacciones conocidas para el técnico experto. Un experto en la materia también reconocerá que pueden emplearse métodos alternativos para sintetizar los compuestos diana de esta invención, y que los enfoques descritos dentro del cuerpo de este documento no son exhaustivos, pero verdaderamente proporcionan rutas prácticas y ampliamente aplicables a los compuestos de interés.

Determinadas moléculas reivindicadas en esta patente pueden existir en diferentes formas enantioméricas y diastereoméricas y se reivindican todas esas variantes de estos compuestos.

La descripción detallada de los procedimientos experimentales usados para sintetizar compuestos clave en este texto conducen a moléculas que se describen mediante los datos físicos que las identifican, así como por las representaciones químicas asociadas con ellas.

Los expertos en la materia también reconocerán que durante procedimientos de tratamiento convencionales en química orgánica, se usan habitualmente ácidos y bases. Algunas veces se producen sales de los compuestos precursores, si estos poseen la acidez o basicidad intrínseca necesaria, durante los procedimientos experimentales descritos en esta patente.

Ejemplo 1: Síntesis de [3,5-bis(trifluorometil)fenil]amida del ácido 1-(2,6-dimetilfenil)-3-isopropil-5-oxo-pirrolidin-3-carboxílico

5

a) Una mezcla de 2,6-dimetilanilina (121 g, 1 mol) y ácido itacónico (130 g, 1 mol) se calentó a 130 °C durante 45 min en un matraz abierto la atmósfera, dejando que se ventilara el vapor generado. La fuente de calor se retiró y se añadieron 0,8 l de acetato de etilo con agitación vigorosa, mientras la mezcla estaba todavía caliente (permitiendo inicialmente un poco de reflujo). Después, la mezcla se dejó enfriar a temperatura ambiente mientras se agitaba. Los sólidos se retiraron por filtración, se lavaron con 0,4 l de acetato de etilo y se secaron al aire para dar 164 g (rendimiento del 70 %) de cristales incoloros. T_r de CL-EM (tiempo de retención): 0,54 min, EM: (EN) m/z 234 (M+H⁺).

10

b) Se añadió gota a gota cloruro de acetilo (2,40 g, 30,9 mmol) a 400 ml de metanol. Se añadió ácido 1-(2,6-dimetilfenil)-5-oxo-pirrolidin-3-carboxílico (144 g, 618 mmol, preparado en la etapa a anterior) a la solución, seguido de ortoformiato de trimetilo (67 ml, 618 mmol). La mezcla se calentó a 64 °C durante 1 h y después se concentró al vacío para dar 152 g (rendimiento del 99 %) de producto puro en forma de un aceite. T_r de CL-EM (tiempo de retención): 1,49 min, EM: (EN) m/z 248 (M+H⁺).

15

c) Se añadió LHMDS (1,0 M en THF, 15,3 ml, 15,3 mmol) a la solución de éster metílico del ácido 1-(2,6-dimetilfenil)-5-oxo-pirrolidin-3-carboxílico (3,44 g, 13,9 mmol) en THF (7 ml) en un matraz de reacción enfriado a -50 °C en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se dejó calentar hasta 0 °C, momento en el que se añadió 2-yodopropano (2,78 ml, 27,8 mmol). La mezcla de reacción se dejó calentar hasta temperatura ambiente y se mantuvo en agitación durante 2 h. Se añadieron 20 ml de una solución acuosa semisaturada de cloruro de amonio, seguido de 100 ml de CH₂Cl₂. La fase orgánica se concentró al vacío sobre gel de sílice y se purificó por cromatografía ultrarrápida (SiO₂, EtOAc al 20-60 %/hexanos) para dar 1,65 g del compuesto deseado (rendimiento del 41 %). T_r de CL-EM (tiempo de retención): 2,24 min, EM: (EN) m/z 290 (M+H⁺).

20

25

d) Se añadió hidróxido de litio (96 mg, 4,00 mmol) a una solución del éster de la etapa c (115 mg, 0,40 mmol) en metanol (1 ml) y agua (1 ml) a temperatura ambiente. La mezcla se calentó en un vial cerrado herméticamente a 80 °C durante 1 h, momento en el que se completó la reacción. El disolvente orgánico se retiró al vacío. A la solución resultante se le añadieron 4,0 ml de ácido clorhídrico acuoso 1 M y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 15 minutos. Los sólidos de color blanco se retiraron por filtración, se lavaron con 5 ml más de agua y se secaron al vacío para dar 93 mg del producto (rendimiento del 85 %). CL-EM: T_r (tiempo de retención): 1,74 min, EM: (EN) m/z 276 (M+H⁺).

30

35

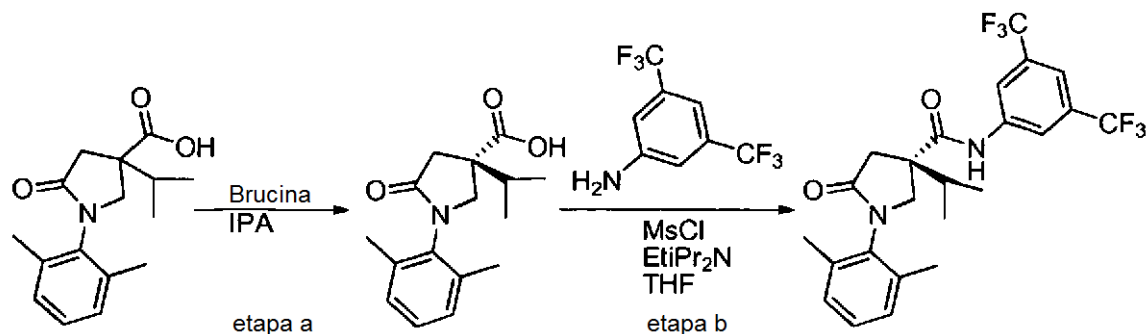
e) Se añadió 3,5-bis(trifluorometil)anilina (42,0 mg, 0,185 mmol) a una solución del ácido preparado anteriormente (51,0 mg, 0,185 mmol) y trietilamina (6 equiv.) en acetonitrilo (1 ml). Después, se añadió T3P (solución al 50 %, 235 mg, 0,370 mmol) y la solución se dejó en agitación a 85 °C durante 16 h. La mezcla de reacción se concentró al vacío y se redisolvió en CH₂Cl₂. La solución se concentró al vacío sobre gel de sílice y se purificó por cromatografía ultrarrápida (SiO₂, EtOAc al 20-80 %/hexanos) para dar 7,0 mg del compuesto deseado (rendimiento del 8 %) en forma de un sólido de color blanco. RMN ¹H (400 MHz, DMSO- d₆) δ 0,96 (d, J = 6,8, 3H), 0,97 (d, J = 6,8, 3H), 1,98 (s, 3H), 2,16 (s, 3H), 2,38 (cc, J = 6,8, 6,8, 1H), 2,69 (d, J = 17,2, 1H), 3,05 (d, J = 17,2, 1H), 3,67 (d, J = 10,8, 1H), 3,98 (d, J = 10,8, 1H), 7,03-7,15 (m, 3H), 7,80 (s, 1H), 8,35 (s, 2H), 10,31 (s, 1H). CL-EM: T_r (tiempo de retención) = 2,94 min, EM:

40

(EN) m/z 487 ($M+H^+$).

Ejemplo 2: Síntesis de [3,5-bis(trifluorometil)fenil]amida del ácido (3R)-1-(2,6-dimetilfenil)-3-isopropil-5-oxo-pirrolidin-3-carboxílico

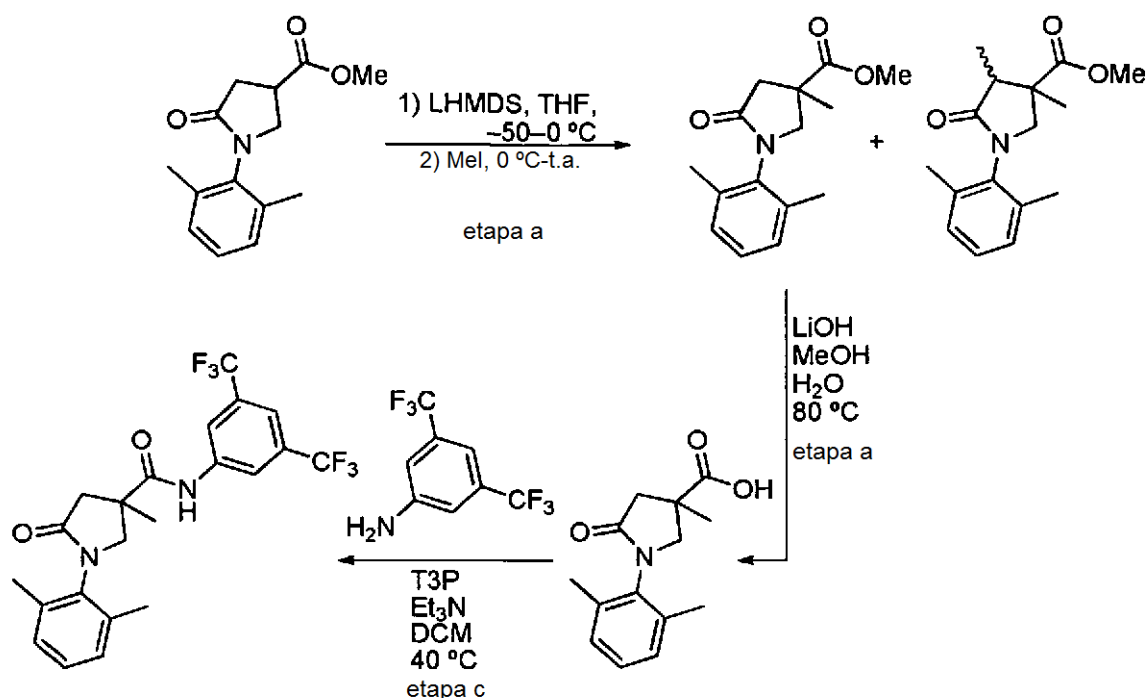
5



a) Una mezcla de ácido 1-(2,6-dimetilfenil)-3-isopropil-5-oxo-pirrolidin-3-carboxílico (preparado como en el ejemplo 1, etapa d, 2,47 g, 8,97 mmol) y brucina (3,98 g, 10,09 mmol) en IPA (20 ml) se calentó a 80 °C hasta que la solución se volvió transparente. La solución se dejó enfriar a temperatura ambiente y se sembró con cristales diastereoméricamente puros, después se dejó reposar a temperatura ambiente durante 6 días, seguido de enfriamiento a 0 °C y maduración durante 4 h más. Los cristales se retiraron por filtración a 0 °C, se lavaron con IPA frío en un matraz separado y se conservaron como semillas para futuros lotes. Las aguas madre (que no contenían los lavados) se diluyeron con 40 ml de ácido clorhídrico acuoso 1 M y 40 ml de éter dietílico y se agitaron vigorosamente durante 15 minutos. La fase de separación posterior produjo una fase orgánica, que se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, se filtró y se concentró al vacío para dar 1,20 g de ácido enriquecido enantioméricamente (ee = 76,2 %). El sólido se recrystalizó en una mezcla de tolueno caliente (25 ml) y dioxano (3 ml) para dar 0,90 g de ácido enriquecido adicionalmente (ee = 97,3 %). La recrystalización se repitió dos veces más para obtener 0,75 g de ácido enantioméricamente puro (ee > 99,8 %) (rendimiento del 30 %) en forma de cristales incoloros. T_r de CL-EM (tiempo de retención): 1.86 min. EM: (EN) *m/z* 276 (M+H⁺).

b) Se añadió gota a gota cloruro de metanosulfonilo (167 mg, 1,45 mmol) a una solución de ácido (3R)-1-(2,6-dimetilfenil)-3-isopropil-5-oxo-pirrolidin-3-carboxílico enantioméricamente puro (182 mg, 0,661 mmol, preparado en la etapa a anterior), N,N-di-isopropiletilamina (374 mg, 2,90 mmol) y 3,5-bis(trifluorometil)anilina (331 mg, 1,45 mmol) en THF (4 ml). La agitación a temperatura ambiente durante 1 h permitió que se completara la reacción, momento en el que se añadieron 5 ml de ácido clorhídrico acuoso 0,3 M y 10 ml de DCM, y la mezcla se agitó vigorosamente durante 5 min. La fase orgánica separada se concentró al vacío sobre gel de sílice y se purificó por cromatografía ultrarrápida (SiO₂, EtOAc al 25-60 %/hexanos) para dar un residuo blanquecino, que se recrystalizó en una mezcla de acetato de etilo caliente (2 ml) y hexanos (7 ml) para dar 203 mg del compuesto deseado (rendimiento del 63 %) en forma de cristales incoloros. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 1,09 (d, J = 7,4, 3H), 1,11 (d, J = 7,4, 3H), 2,13 (s, 3H), 2,23 (s, 3 H), 2,26 (cc, J = 7,4, 7,4, 1H), 2,81 (d, J = 17,2, 1H), 3,09 (d, J = 17,2, 1H), 3,61 (d, J = 10,4, 1H), 4,17 (d, J = 10,4, 1H), 7,02-7,18 (m, 3H), 7,64 (s, 1H), 7,86 (s, 1H), 8,05 (s, 2H). CL-EM: T_r (tiempo de retención) = 3,10 min, EM: (EN) m/z 487 (M+H⁺).

35

Ejemplo 3: Síntesis de [3,5-bis(trifluorometil)fenil]amida del ácido 1-(2,6-dimetilfenil)-3-metil-5-oxo-pirrolidin-3-carboxílico

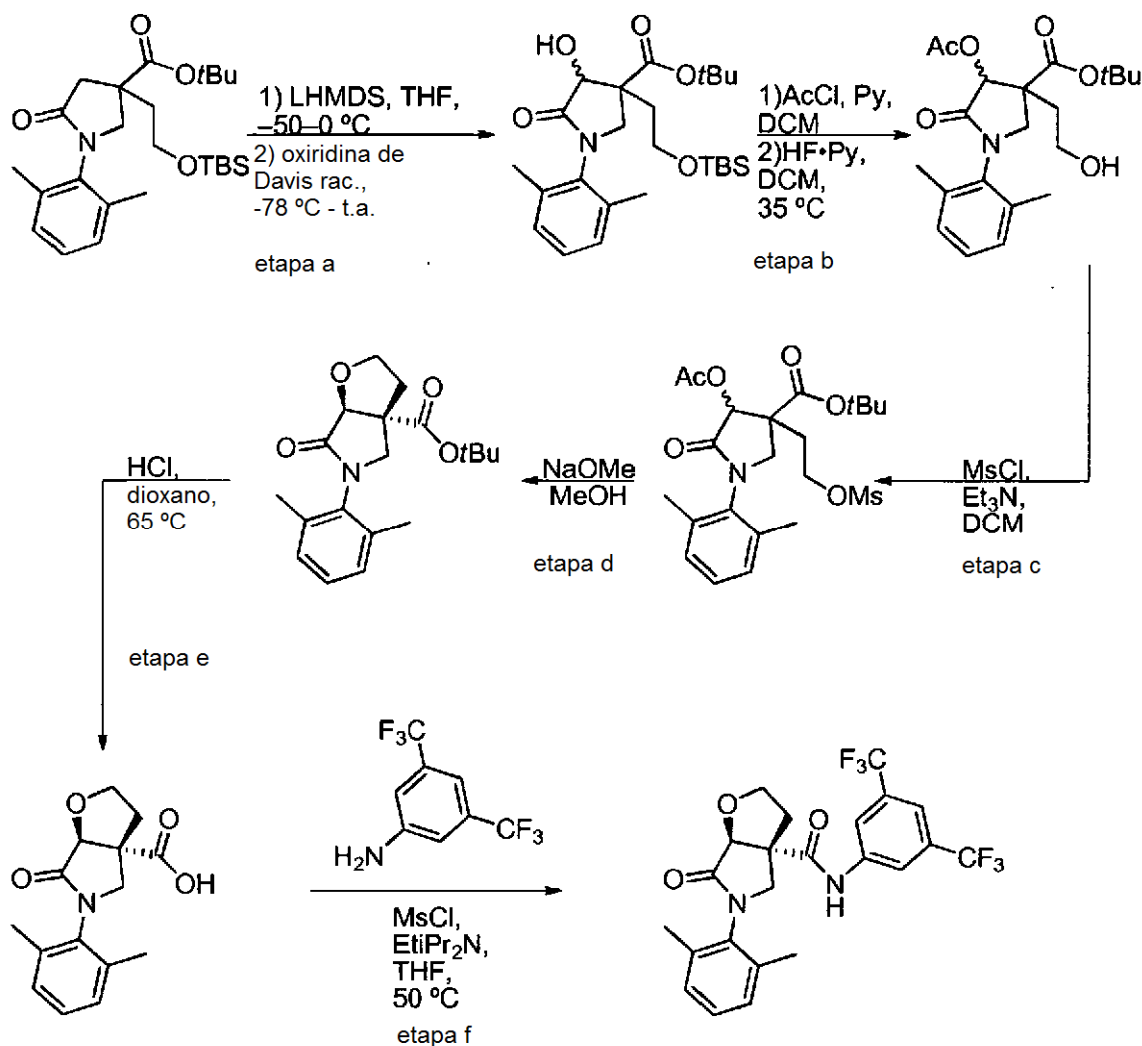
a) Se añadió LHMDS (1,0 M en THF, 26,9 ml, 26,9 mmol) a la solución de éster metílico del ácido 1-(2,6-dimetilfenil)-5-oxo-pirrolidin-3-carboxílico (5,53 mg, 22,4 mmol, preparada en el ejemplo 1, etapa b en THF (20 ml) en un matraz de reacción enfriado a -50 °C en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se dejó calentar hasta 0 °C, y después se enfrió a -20 °C, momento en el que se añadió yodometano (7,0 ml, 5 equiv.). La mezcla de reacción se dejó calentar hasta temperatura ambiente y se mantuvo en agitación durante 15 min. Se añadieron 50 ml de una solución acuosa semisaturada de cloruro de amonio y la mezcla se extrajo con dos porciones de 50 ml de CH₂Cl₂. Las fases orgánicas combinadas se concentraron al vacío sobre gel de sílice y se purificaron por cromatografía ultrarrápida (SiO₂, EtOAc al 30-100 %/hexanos) para dar 4,00 g del compuesto deseado (rendimiento del 68 %). T_r de CL-EM (tiempo de retención): 1,87 min, EM: (EN) m/z 262 (M+H⁺).

Como un producto menor, se aislaron 0,54 g de una mezcla de ésteres metílicos del ácido 1-(2,6-dimetilfenil)-3,4-dimetil-5-oxo-pirrolidin-3-carboxílico diastereomérico (rendimiento del 8,8 %). T_r de CL-EM (tiempo de retención): 2,10 min, EM: (EN) m/z 276 (M+H⁺).

b) Se añadió hidróxido de litio (81 mg, 3,38 mmol) a una solución del éster de la etapa a (146 mg, 0,56 mmol) en metanol (1 ml) y agua (1 ml) a temperatura ambiente. La mezcla se calentó en un vial cerrado herméticamente a 80 °C durante 30 min, momento en el que se completó la reacción. El disolvente orgánico se retiró al vacío. A la solución resultante, se le añadieron 0,28 ml de ácido clorhídrico acuoso 12 M y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 15 minutos. Los sólidos de color blanco se retiraron por filtración, se lavaron con 5 ml más de agua y se secaron al vacío para dar 120 mg del producto (rendimiento del 87 %). CL-EM: T_r (tiempo de retención): 0,92 min, EM: (EN) m/z 248 (M+H⁺).

c) Se añadió 3,5-bis(trifluorometil)anilina (56,0 mg, 0,243 mmol) a una solución del ácido preparado anteriormente (60,0 mg, 0,243 mmol) y trietilamina (6 equiv.) en CH₂Cl₂ (1 ml). Después, se añadió T3P (solución al 50 %, 309 mg, 0,486 mmol) y la solución se dejó en agitación a 40 °C durante 16 h. La solución se concentró al vacío sobre gel de sílice y se purificó por cromatografía ultrarrápida (SiO₂, EtOAc al 30-100 %/hexanos) para dar un residuo blanquecino, que se recristalizó en una mezcla de acetato de etilo caliente (2 ml) y hexanos (2 ml) para dar 37 mg del compuesto deseado (rendimiento del 33 %) en forma de cristales incoloros. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 1,63 (s, 3H), 2,04 (s, 3H), 2,18 (s, 3H), 2,49 (d, J = 16,4, 1H), 3,12 (d, J = 16,4, 1H), 3,48 (d, J = 10,2, 1H), 4,02 (d, J = 10,2, 1H), 7,05-7,18 (m, 3H), 7,79 (s, 1H), 8,35 (s, 2H), 10,22 (s, 1H). CL-EM: T_r (tiempo de retención) = 2,78 min, EM: (EN) m/z 459 (M+H⁺).

Ejemplo 4: Síntesis de [3,5-bis(trifluorometil)fenil]amida del ácido (3aR*,6aS*)-5-(2,6-dimetilfenil)-6-oxohexahidrofuro[2,3-c]pirrol-3a-carboxílico



- 5 a) Se añadió LHMDS (1,0 M en THF, 4,54 ml, 4,54 mmol) a la solución de éster *tert*-butilico del ácido 3-[2-(*tert*-butildimetilsilanilo)etil]-1-(2,6-dimetilfenil)-5-oxo-pirrolidin-3-carboxílico (preparado en el ejemplo 4, etapa a, 1,69 g, 3,78 mmol) en THF (2 ml), en un matraz de reacción enfriado a -50 °C en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se dejó calentar hasta 0 °C, después se enfrió inmediatamente a -78 °C, momento en el que se
- 10 añadió gota a gota una solución de (±)-(alcanforilsulfonyl)-oxaziridina (1,27 g, 5,56 mmol) en THF (6 ml). La mezcla de reacción se dejó calentar hasta temperatura ambiente y se mantuvo en agitación durante 1 h. Se añadieron 20 ml de una solución acuosa semisaturada de cloruro de amonio, seguido de 100 ml de hexanos. La fase orgánica se concentró al vacío sobre gel de sílice y se purificó por cromatografía ultrarrápida (SiO₂, EtOAc al 5-50 %/hexanos) para dar 1,46 g de un residuo. Ese sólido se disolvió de nuevo en 30 ml de hexanos. La suspensión se filtró y el sólido se descartó. El filtrado se concentró al vacío para dar 1,38 g del compuesto deseado.
- 15

(rendimiento del 79 %, mezcla 80:20 de diaestereoisómeros observada por RMN ¹H). T_r de CL-EM (tiempo de retención): 3,23 min, EM: (EN) m/z 464 (M+H⁺).

- 20 b) Se añadió gota a gota cloruro de acetilo (334 µl, 4,68 mmol) a una solución que contenía el alcohol preparado en la etapa a anterior (1,38 g, 2,98 mmol) y piridina (721 µl, 8,94 mmol) en CH₂Cl₂ (10 ml) en un vial de polipropileno. La solución se dejó reaccionar durante 30 minutos, momento en el que se añadió complejo de fluoruro de hidrógeno - piridina (70 %p HF, 300 µl, 11,9 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla se calentó a 35 °C durante 3 h. La solución se concentró al vacío sobre gel de sílice y se purificó por cromatografía ultrarrápida (SiO₂, EtOAc al 30-80 %/hexanos)
- 25 para dar 909 mg del compuesto deseado (rendimiento del 78 %). CL-EM: T_r (tiempo de retención): 2,05, 2,21 min (mezcla 80:20 de diaestereoisómeros), EM: (EN) m/z 392 (M+H⁺).

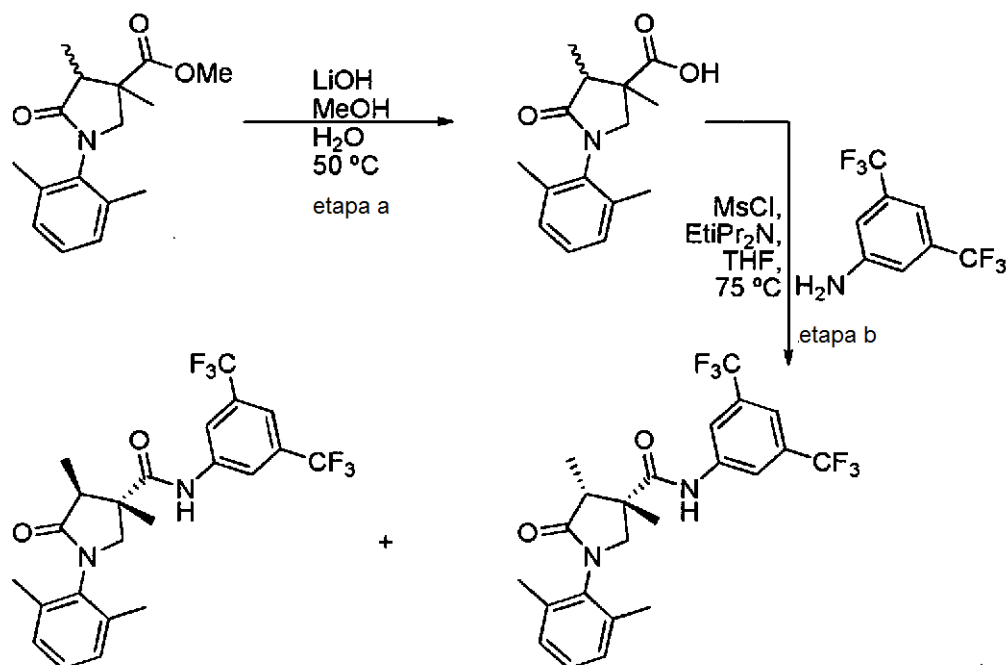
c) Se añadió gota a gota cloruro de metanosulfonilo (234 μ l, 3,00 mmol) a una solución del alcohol preparado en la etapa b anterior (905 mg, 2,31 mmol) y trietilamina (451 μ l, 4,17 mmol) en CH_2Cl_2 (4 ml). La solución se maduró a temperatura ambiente durante 10 minutos, se concentró al vacío sobre gel de sílice y se purificó por cromatografía ultrarrápida (SiO_2 , EtOAc al 30-80 %/hexanos) para dar 912 mg del compuesto deseado (rendimiento del 84 %). T_r de CL-EM (tiempo de retención): 2,37 min, EM: (EN) m/z 470 ($\text{M}+\text{H}^+$).

d) Se añadió hidruro sódico (60 %, 28 mg, 0,704 mmol) a la solución del mesilato preparado en la etapa c anterior (300 mg, 0,640 mmol) en metanol (15 ml). La mezcla de reacción se maduró a temperatura ambiente durante 2 h, momento en el que se añadió ácido acético (45 mg, 0,75 mmol). La mezcla se concentró al vacío sobre gel de sílice y se purificó por cromatografía ultrarrápida (SiO_2 , EtOAc al 20-80 %/hexanos) para dar 142 mg del compuesto deseado (rendimiento del 67 %). CL-EM T_r (tiempo de retención): 2,28 min, EM: (EN) m/z 332 ($\text{M}+\text{H}^+$).

e) El compuesto bicíclico preparado en la etapa d (71 mg, 0,215 mmol) se disolvió en una solución 4 N de cloruro de hidrógeno en dioxano (2 ml). La solución resultante se calentó a 65 °C durante 5 h en un recipiente cerrado herméticamente, seguido de concentración al vacío para dar 59 mg del ácido carboxílico. T_r de CL-EM (tiempo de retención): 0,58 min, EM: (EN) m/z 276 ($\text{M}+\text{H}^+$).

f) Se añadió gota a gota cloruro de metanosulfonilo (49 mg, 0,428 mmol) a una solución del ácido carboxílico preparado en la etapa e anterior (59 mg, 0,215 mmol), *N,N*-diisopropiletilamina (139 mg, 1,08 mmol) y 3,5-bis(trifluorometil)anilina (98 mg, 0,428 mmol) en THF (0,5 ml). La agitación a 50 °C durante 1 h permitió que se completara la reacción. Se añadieron 4 ml de agua y 8 ml de CH_2Cl_2 y la mezcla se agitó vigorosamente durante 5 min. La fase orgánica separada se concentró al vacío sobre gel de sílice y se purificó dos veces por cromatografía ultrarrápida (SiO_2 , EtOAc al 20-80 %/hexanos) para dar 60 mg del compuesto deseado (rendimiento del 57 %) en forma de un sólido de color blanco. RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 2,10 (s, 3H), 2,18 (s, 3H), 2,38-2,48 (m, 1H), 2,57-2,67 (m, 1H), 3,70 (d, $J = 11,0$, 1H), 3,82-3,90 (m, 1H), 4,08 (d, $J = 11,0$, 1H), 4,08-4,16 (m, 1H), 4,98 (s, 1H), 7,08-7,20 (m, 3H), 7,80 (s, 1H), 8,34 (s, 2H), 10,36 (s, 1H). CL-EM: T_r (tiempo de retención) = 2,66 min, EM: (EN) m/z 487 ($\text{M}+\text{H}^+$).

Ejemplo 5 y 6: Síntesis de [3,5-bis(trifluorometil)fenil]amida del ácido (3S*,4S*)-1-(2,6-dimetilfenil)-3,4-dimetil-5-oxo-pirrolidin-3-carboxílico y [3,5-bis(trifluorometil)fenil]amida del ácido (3S*,4R*)-1-(2,6-dimetilfenil)-3,4-dimetil-5-oxo-pirrolidin-3-carboxílico

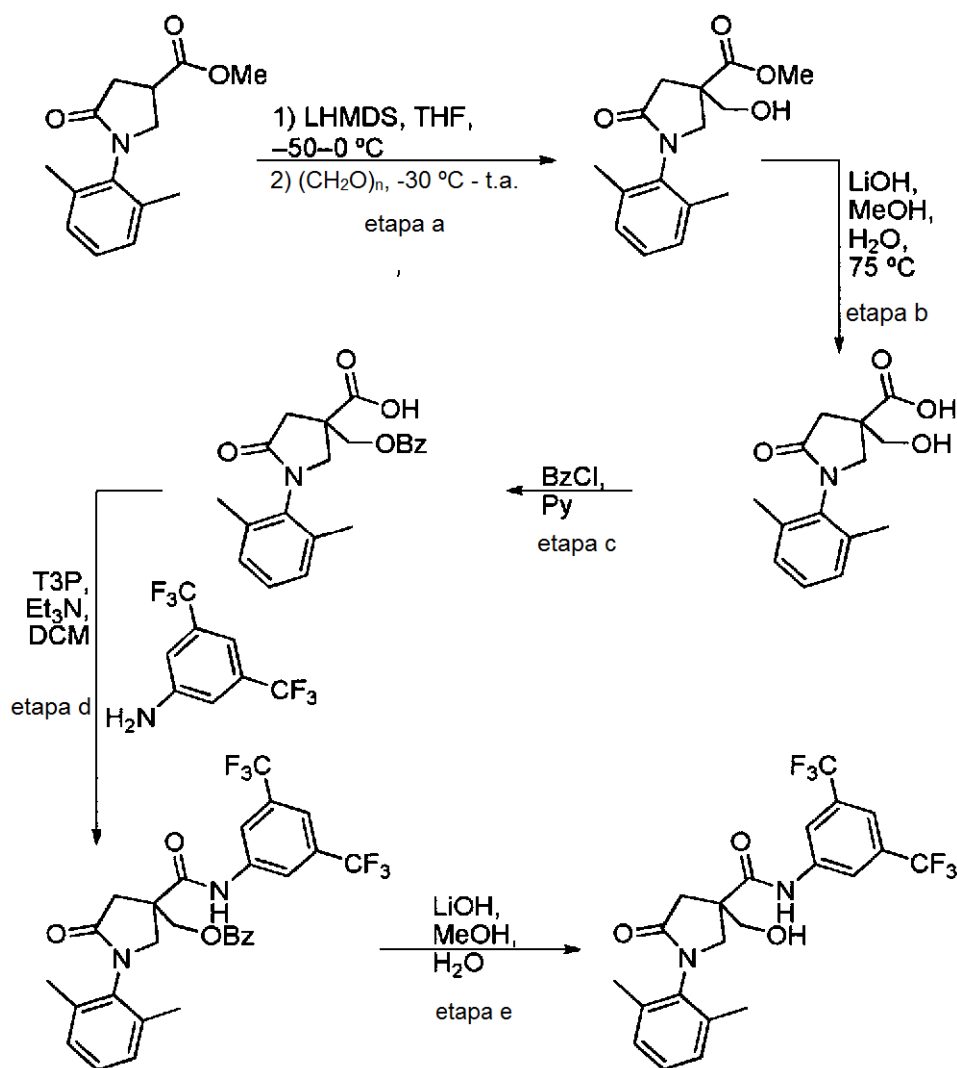


a) Se añadió hidróxido de litio (283 mg, 11,8 mmol) a una solución de una mezcla diastereoisomérica de ésteres metílicos del ácido 1-(2,6-dimetilfenil)-3,4-dimetil-5-oxo-pirrolidin-3-carboxílico, preparada en el ejemplo 3, etapa a (540 mg, 1,96 mmol) en metanol (5 ml) y agua (5 ml) a temperatura ambiente. La mezcla se calentó a 50 °C durante 2 h, momento en el que se completó la reacción. El disolvente orgánico se retiró al vacío. A la solución resultante se le añadieron 11,8 ml de ácido clorhídrico acuoso 1 M y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Los sólidos de color blanco se retiraron por filtración, se lavaron con 10 ml más de agua y se secaron al vacío para dar 480 mg del producto (rendimiento del 94 %). CL-EM: T_r (tiempo de retención): 1,32 min, EM: (EN) m/z 262 ($\text{M}+\text{H}^+$).

b) Se añadió gota a gota cloruro de metanosulfonilo (328 mg, 2,86 mmol) a una solución del ácido carboxílico preparado en la etapa a anterior (311 mg, 1,19 mmol), *N,N*-diisopropiletilamina (738 mg, 5,72 mmol) y 3,5-bis(trifluorometil)anilina (654 mg, 2,86 mmol) en THF (1,5 ml). La agitación a 75 °C durante 2 h permitió que se completara la reacción. Se añadieron 5 ml de agua y 10 ml de CH₂Cl₂ y la mezcla se agitó vigorosamente durante 5 min. La fase orgánica separada se concentró al vacío sobre gel de sílice y se purificó por cromatografía ultrarrápida (SiO₂, EtOAc al 25-80 %/hexanos) para dar el isómero que se eluye en primer lugar. Este se recrystalizó en acetato de etilo caliente (2 ml) y hexanos (2 ml) para dar 82 mg (rendimiento del 15 %) de un sólido de color blanco (3S*,4S*). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 1,18 (d, *J* = 7,6, 3H), 1,51 (s, 3H), 2,06 (s, 3H), 2,19 (s, 3H), 3,14 (c, *J* = 7,6, 1H), 3,51 (d, *J* = 10,0, 1H), 3,93 (d, *J* = 10,0, 1H), 7,06-7,18 (m, 3H), 7,78 (s, 1H), 8,36 (s, 2H), 10,06 (s, 1H). CL-EM: T_r (tiempo de retención) = 2,84 min, EM: (EN) *m/z* 473 (M+H⁺).

El isómero que se eluye en segundo lugar, (3S*,4R*), se obtuvo con un rendimiento del 31 % (174 mg) en forma de un sólido de color blanco después de recrystalización posterior en acetato de etilo caliente (5 ml). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 1,19 (d, *J* = 7,4, 3H), 1,69 (s, 3H), 2,12 (s, 3H), 2,19 (s, 3H), 2,61 (c, *J* = 7,4, 1H), 3,28 (d, *J* = 10,4, 1H), 4,20 (d, *J* = 10,4, 1H), 7,06-7,18 (m, 3H), 7,79 (s, 1H), 8,36 (s, 2H), 10,15 (s, 1H). CL-EM: T_r (tiempo de retención) = 2,89 min, EM: (EN) *m/z* 473 (M+H⁺).

Ejemplo 7: Síntesis de [3,5-bis(trifluorometil)fenil]amida del ácido (±)-1-(2,6-dimetilfenil)-3-hidroximetil-5-oxo-pirrolidin-3-carboxílico



a) Se añadió LHMDS (1,0 M en THF, 2,4 ml, 2,4 mmol) a la solución de éster metílico del ácido 1-(2,6-dimetilfenil)-5-oxo-pirrolidin-3-carboxílico (preparado en el ejemplo 1, etapa b, 432 mg, 1,75 mmol) en THF (1 ml) en un matraz de reacción enfriado a -50 °C en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se dejó calentar hasta 0 °C y después se enfrió de nuevo a -30 °C, momento en el que se añadió paraformaldehído sólido (263 mg, 8,75 mmol). La mezcla de reacción se dejó calentar hasta temperatura ambiente y se mantuvo en agitación durante 1 h. Se

añadieron 5 ml de una solución acuosa semisaturada de cloruro de amonio, seguido de 10 ml de CH_2Cl_2 . La fase orgánica se concentró al vacío sobre gel de sílice y se purificó por cromatografía ultrarrápida (SiO_2 , EtOAc al 40-100 %/hexanos) para dar 136 mg del compuesto deseado (rendimiento del 28 %). T_r de CL-EM (tiempo de retención): 0,81 min, EM: (EN) m/z 278 ($\text{M}+\text{H}^+$).

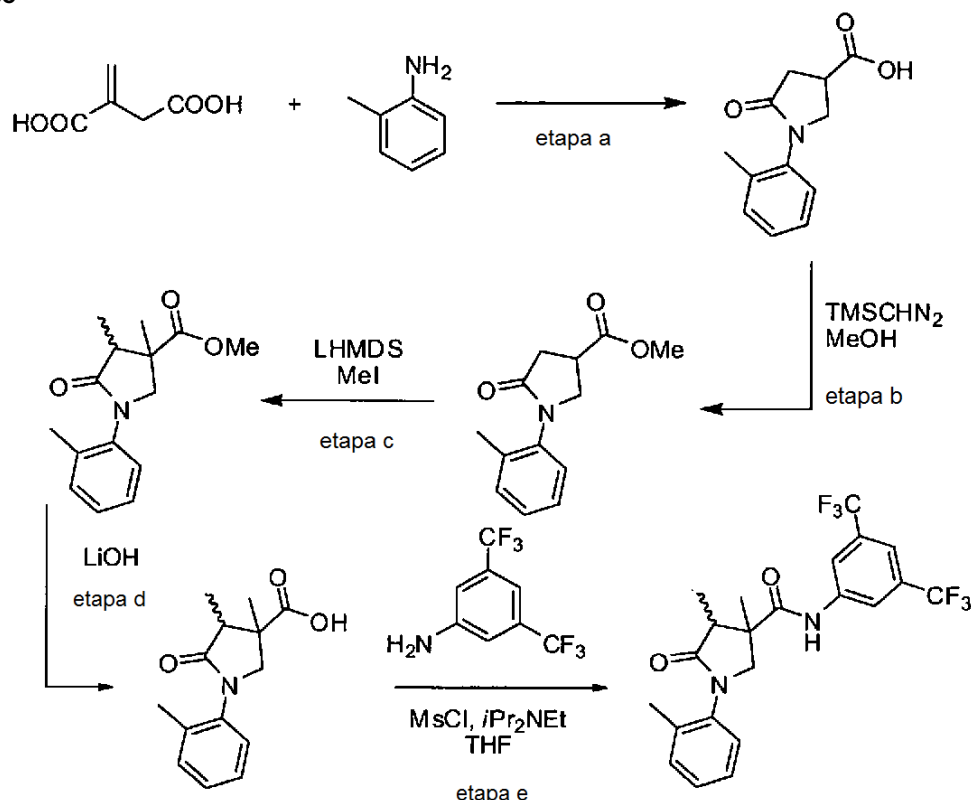
b) Se añadió hidróxido de lito (71 mg, 2,94 mmol) a una solución del éster de la etapa a (136 mg, 0,49 mmol) en metanol (1 ml) y agua (1 ml) a temperatura ambiente. La mezcla se calentó en un vial cerrado herméticamente a 75 °C durante 1 h, momento en el que se completó la reacción. A la solución resultante se le añadieron 2,7 ml de ácido clorhídrico acuoso 1 M y el disolvente se retiró al vacío. CL-EM: T_r (tiempo de retención): 0,39 min, EM: (EN) m/z 264 ($\text{M}+\text{H}^+$).

c) El residuo seco de la etapa b se disolvió/suspendió en piridina (2 ml). Se añadió cloruro de benzoílo (300 μl , 2,58 mmol) en tres porciones durante 45 minutos. El disolvente se retiró al vacío y el residuo se recogió en éter dietílico (10 ml) y agua (10 ml). La mezcla se acidificó a pH = 4 con ácido clorhídrico acuoso 1 N. El disolvente de la fase orgánica se retiró al vacío. CL-EM: T_r (tiempo de retención): 2,07 min, EM: (EN) m/z 368 ($\text{M}+\text{H}^+$).

d) Se añadió 3,5-bis(trifluorometil)anilina (600 mg, 2,62 mmol) a una suspensión del benzoato preparado anteriormente y trietilamina (1,6 ml, 11,5 mmol) en CH_2Cl_2 (2 ml). Después, se añadió T3P (solución al 50 %, 2,3 ml, 3,87 mmol) y la solución se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 4 h. La solución se concentró al vacío sobre gel de sílice y se purificó por cromatografía ultrarrápida (SiO_2 , EtOAc al 20-80 %/hexanos) para dar 19 mg del compuesto deseado en forma de un sólido blanquecino. CL-EM: T_r (tiempo de retención): 3,03 min, EM: (EN) m/z 579 ($\text{M}+\text{H}^+$).

e) Se añadió hidróxido de litio (2,5 mg, 0,104 mmol) a una solución del benzoato de la etapa d (10 mg, 0,017 mmol) en metanol (0,2 ml) y agua (0,2 ml) a temperatura ambiente. La mezcla se maduró a temperatura ambiente durante 2 h, momento en el que se completó la reacción. A la solución resultante se le añadieron 0,11 ml de ácido clorhídrico acuoso 1 M y el disolvente se retiró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (SiO_2 , EtOAc al 30-100 %/hexanos) para dar 4 mg del compuesto deseado en forma de un sólido de color blanquecino. RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 2,07 (s, 3H), 2,16 (s, 3H), 2,61 (d, J = 16,8, 1H), 3,02 (d, J = 16,8, 1H), 3,58 (d, J = 10,2, 1H), 3,86 (d, J = 5,2, 2H), 3,98 (d, J = 10,2, 1H), 5,54 (t, J = 5,2, 1H), 7,05-7,18 (m, 3H), 7,78 (s, 1H), 8,36 (s, 2H), 10,17 (s, 1H). CL-EM: T_r (tiempo de retención): 2,57 min, EM: (EN) m/z 475 ($\text{M}+\text{H}^+$).

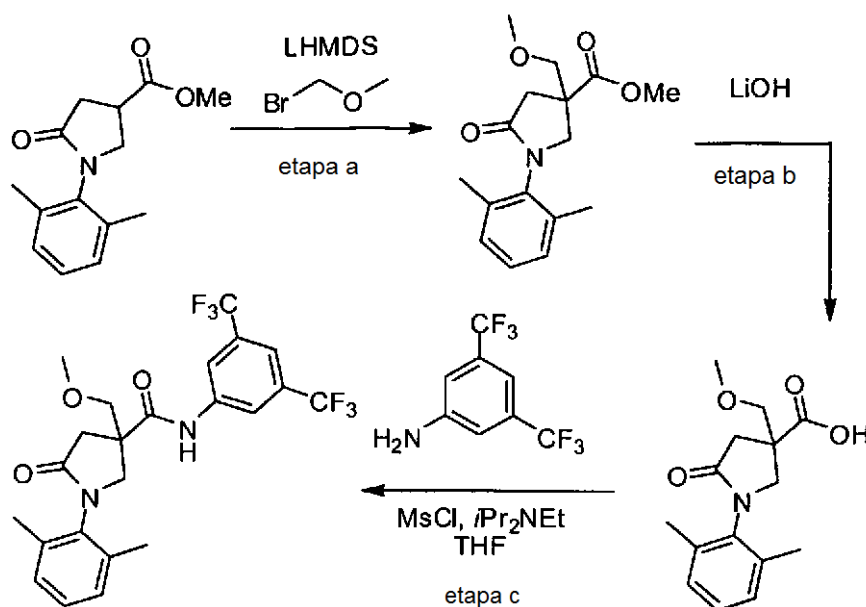
Procedimiento de CL-EM: Agilent Zorbax SB-C18, 2,1 x 50 mm, 5 μ , 35 °C, caudal de 1 ml/min, un gradiente de 2,5 min de B del 20 % al 100 % con un lavado de 1,0 min a B al 100 %; A = 0,1 % de ácido fórmico /5 % de acetonitrilo al /94,9 de agua, B = 0,1 % de ácido fórmico /5 % de agua/ 94,9 de acetonitrilo

Ejemplo 8: Síntesis de (3,5-bis-trifluorometil-fenil)amida del ácido 3,4-dimetil-5-oxo-1-o-tolil-pirrolidin-3-carboxílico

- 5 a) Se añadió ácido itacónico (12,1 g, 93 mmol) a una solución de 2-metilanilina (10 g, 93 mmol) y la reacción se calentó a 140 °C durante 1 h. Después, la solución se enfrió a 65 °C y se añadió EtOAc (100 ml) para producir un sólido. El sólido se recogió por filtración y se enjuagó con hexanos para el ácido deseado con un rendimiento del 55 % (10,7 g). T_r de CL-EM (tiempo de retención): 0,41 min, EM: (EN) *m/z* 220,2 (M+H⁺).
- 10 b) Se añadió TMSCHN₂ (2,0 M en Et₂O, 7 ml, 14 mmol) a una solución del ácido de la etapa a (0,75 g, 3,4 mmol) en MeOH (17 ml) a 0 °C. La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 15 min y se interrumpió con ácido acético (~0,5 ml). La solución se concentró a presión reducida. El residuo se sometió a purificación por cromatografía ultrarrápida (SiO₂, hexanos al 0-40 %/EtOAc) para dar el producto deseado con un rendimiento del 99 % (0,79 g). T_r de CL-EM (tiempo de retención): 0,99 min, EM: (EN) *m/z* 234,1 (M+H⁺).
- 15 c) Se añadió bis(trimetilsilil)amida de litio (1,0 M en THF, 5,1 ml, 5,1 mmol) a una solución del éster de la etapa b (0,79 g, 3,4 mmol) en THF (36 ml) en un matraz de reacción a -50 °C y se agitó durante 5 min. La reacción se calentó a 0 °C y se siguió con la adición de MeI (2,5 g, 18 mmol). Después, la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Después, la reacción se interrumpió con NH₄Cl saturado. Las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 x). Las fases orgánicas combinadas se secaron (MgSO₄) y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (SiO₂, hexanos al 0-50 %/EtOAc) para dar el compuesto deseado con un rendimiento del 29 % (0,27 g). T_r de CL-EM (tiempo de retención): 2,25 min, EM: (EN) *m/z* 262,3 (M+H⁺).
- 20 d) Se añadió hidróxido de litio (1,0 M en H₂O, 10 ml, 10 mmol) a una solución del éster de la etapa c (0,27 g, 1,03 mmol) en MeOH (5 ml). La solución resultante se calentó a 75 °C durante 18 h. La solución se concentró a presión reducida para dar ¼ del volumen original y se añadió gota a gota HCl acuoso 6 M (~1 ml) para ajustar el pH a aproximadamente 4. Después, la fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 x). Las fases orgánicas combinadas se secaron (MgSO₄) y se concentraron a presión reducida para dar el producto en bruto (0,075 g, 28 %). CL-EM: T_r (tiempo de retención): 1,02 min and 1,15 min (dos diastereómeros), EM: (EN) *m/z* 248,2 (M+H⁺).
- 25 e) Se añadieron ácido metanosulfónico (0,04 g, 0,43 mmol) e *i*Pr₂NEt (0,11 ml, 0,63 mmol) a una solución del ácido de la etapa d (0,075 g, 0,29 mmol) en THF (2,9 ml) a temperatura ambiente. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 5 min, seguido de la adición de 3,5-bis(trifluorometil)anilina (0,066 g, 0,29 mmol). La reacción se calentó a 75 °C hasta que se completó la reacción (4 h). La mezcla se concentró a presión reducida. Se sometió a purificación por cromatografía ultrarrápida (SiO₂, hexanos al 0-75 %/EtOAc) para dar el producto deseado en forma de una mezcla 2:1 de diastereómeros con un rendimiento del 23 % (0,031 g). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ 10,11 (s, 0,7 H), 10,09 (s, 0,3 H), 8,36 (s, 2 H), 7,79 (s, 1 H), 7,26-7,21 (m, 4 H), 4,28 (d, *J* = 10,0 Hz, 0,3 H), 4,13 (d, *J* = 10,0 Hz, 0,7 H), 3,54 (d, *J* = 9,6 Hz, 0,7 H), 3,38 (d, *J* = 10,4 Hz, 0,3 H), 3,14 (c, *J* = 7,2 Hz, 0,7 H), 2,62 (c, *J* = 7,2 Hz, 0,3 H), 2,17
- 30
- 35

(s, 1H), 2,15 (s, 2 H), 1,63 (s, 1 H), 1,45 (s, 2 H), 1,16 (d, $J = 7,2$ Hz, 1 H), 1,15 (d, $J = 7,2$ Hz, 2 H). CL-EM: T_r (tiempo de retención): 2,28 min, EM: (EN) m/z 459,4 ($M+H^+$).

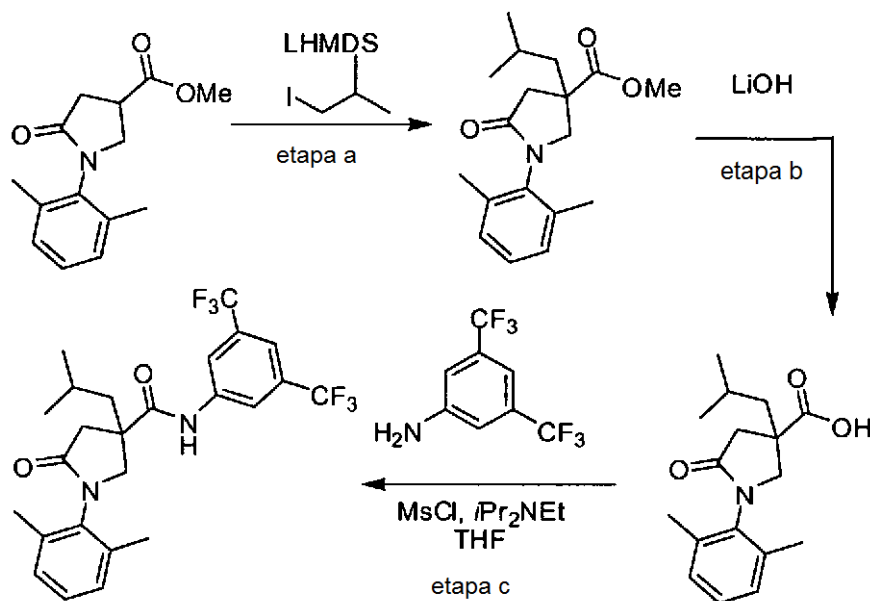
Ejemplo 9: Síntesis de (3,5-bis-trifluorometilfenil)amida del ácido 1-(2,6-dimetilfenil)-3-metoximetil-5-oxo-pirrolidin-3-carboxílico



a) Se añadió bis(trimetilsilil)amida de litio (1,0 M en THF, 1,9 ml, 1,9 mmol) a una solución de éster metílico del ácido 1-(2,6-dimetilfenil)-5-oxo-pirrolidin-3-carboxílico (0,4 g, 1,6 mmol) en THF (16 ml) en un matraz de reacción a -50 °C y se agitó durante 5 min. Después, la reacción se calentó a 0 °C, seguido de la adición de MOMBr (0,29 g, 4,0 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h y se interrumpió con NH_4Cl saturado. Las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 x). Las fases orgánicas combinadas se secaron ($MgSO_4$) y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (SiO_2 , hexanos al 0-60 %/EtOAc) para dar el compuesto deseado con un rendimiento del 43 % (0,2 g). CL-EM: T_r (tiempo de retención): 1,83 min, EM: (EN) m/z 292,3 ($M+H^+$).

b) Se añadió hidróxido de litio (1,0 M en H_2O , 6,8 ml, 6,8 mmol) a una solución del éster de la etapa a (0,2 g, 0,68 mmol) en MeOH (3 ml). La solución resultante se calentó a 75 °C durante 2 h. La solución se concentró a presión reducida para dar $\frac{1}{4}$ del volumen original y se añadió gota a gota HCl acuoso 6 M ($\sim 0,5$ ml) para ajustar el pH a aproximadamente 4. La fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 x). Las fases orgánicas combinadas se secaron ($MgSO_4$) y se concentraron a presión reducida para dar el producto en bruto (0,18 g, 96 %). CL-EM: T_r (tiempo de retención): 1,11, EM: (EN) m/z 278,3 ($M+H^+$).

c) Se añadieron ácido metanosulfónico (0,038 g, 0,32 mmol) y ZPr_2NEt (0,1 ml, 0,59 mmol) a una solución del ácido de la etapa b (0,075 g, 0,27 mmol) en THF (2,7 ml) a temperatura ambiente. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 5 min, seguido de la adición de 3,5-bis(trifluorometil)anilina (0,06 g, 0,27 mmol). La reacción se calentó a 75 °C hasta que se completó la reacción (3 h). La mezcla se concentró a presión reducida. La purificación por cromatografía ultrarrápida (SiO_2 , hexanos al 0-75 %/EtOAc) dio el producto deseado con un rendimiento del 22 % (0,035 g). RMN 1H (400 MHz, $DMSO-d_6$): δ 11,25 (s, 1 H), 8,36 (s, 2 H), 7,79 (s, 1 H), 7,14-7,09 (m, 3 H), 4,01 (d, $J = 10,0$ Hz, 1 H), 3,82 (s, 2 H), 3,60 (d, $J = 10,4$, 1 H), 3,32 (s, 3 H), 3,08 (d, $J = 17,2$ Hz, 1 H), 2,63 (d, $J = 16,8$ Hz, 1 H), 2,17 (s, 3 H), 2,06 (s, 3 H). CL-EM: T_r (tiempo de retención): 2,34 min, EM: (EN) m/z 489,4 ($M+H^+$).

Ejemplo 10: Síntesis de (3,5-bis-trifluorometilfenil)amida del ácido 1-(2,6-dimetilfenil)-3-isobutil-5-oxo-pirrolidin-3-carboxílico

5

a) Se añadió bis(trimetilsilil)amida de litio (1,0 M en THF, 1,9 ml, 1,9 mmol) a una solución de éster metílico del ácido 1-(2,6-dimetilfenil)-5-oxo-pirrolidin-3-carboxílico (0,4 g, 1,6 mmol) en THF (16 ml) en un matraz de reacción a -50°C y se agitó durante 5 min. Después, la reacción se calentó a 0°C , seguido de la adición de 1-yodo-2-metilpropano (0,73 g, 4,0 mmol). La reacción se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 1 h. La reacción se interrumpió NH_4Cl saturado. Las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 x). Las fases orgánicas combinadas se secaron (MgSO_4) y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (SiO_2 , hexanos al 0-70 %/EtOAc) para dar el compuesto deseado con un rendimiento del 43 % (0,18 g). CL-EM: T_r (tiempo de retención): 2,56 min, EM: (EN) m/z 304,4 ($\text{M}+\text{H}^+$).

10

b) Se añadió hidróxido de litio (1,0 M en H_2O , 10 ml, 10 mmol) a una solución del éster de la etapa a (0,18 g, 0,59 mmol) en MeOH (5 ml). La solución resultante se calentó a 75°C durante 2 h. La solución se concentró a presión reducida para dar $\frac{1}{4}$ del volumen original y se añadió gota a gota HCl acuoso 6 M ($\sim 0,5$ ml) para ajustar el pH a aproximadamente 4. La fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 x). Las fases orgánicas combinadas se secaron (MgSO_4) y se concentraron a presión reducida para dar el producto en bruto (0,13 g, 83 %). CL-EM: T_r (tiempo de retención): 2,00 min, EM: (EN) m/z 290,3 ($\text{M}+\text{H}^+$).

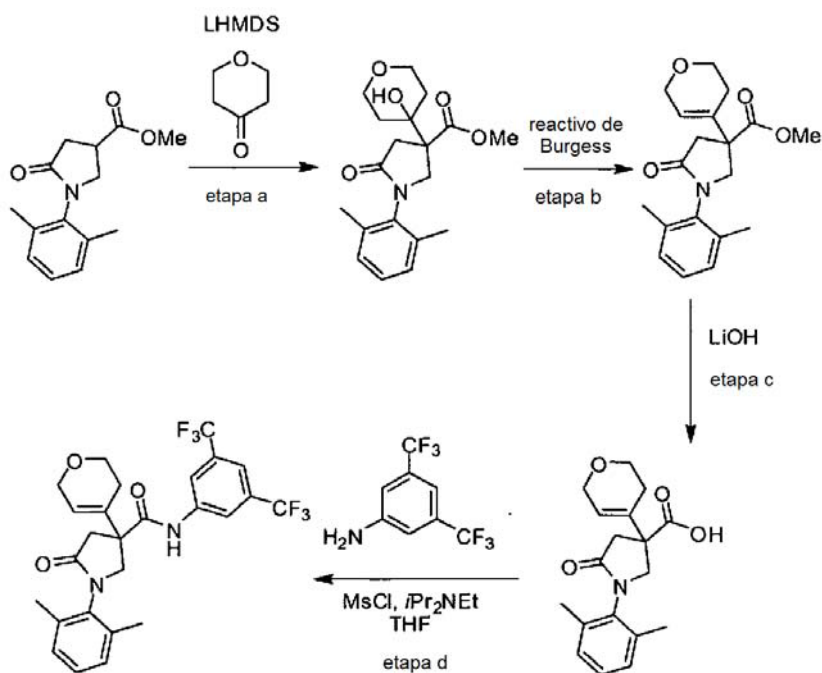
20

c) Se añadieron ácido metanosulfónico (0,065 g, 0,56 mmol) y Pr_2NEt (0,16 ml, 0,96 mmol) a una solución del ácido de la etapa b (0,13 g, 0,47 mmol) en THF (4,7 ml) a temperatura ambiente. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 5 min, seguido de la adición de 3,5-bis(trifluorometil)anilina (0,06 g, 0,27 mmol). La reacción se calentó a 75°C hasta que se completó la reacción (3 h). La mezcla se concentró a presión reducida. La purificación por cromatografía ultrarrápida (SiO_2 , hexanos al 0-75 %/EtOAc) dio el producto deseado con un rendimiento del 22 % (0,051 g). RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 10,38 (s, 1 H), 8,34 (s, 2 H), 7,79 (s, 1 H), 7,12-7,05 (m, 3 H), 3,99 (d, $J = 10,4$ Hz, 1 H), 3,61 (d, $J = 10,4$ Hz, 1 H), 3,13 (d, $J = 16,4$ Hz, 1 H), 2,60 (d, $J = 16,8$ Hz, 1 H), 2,15 (s, 3 H), 2,05 (dd, $J = 6,0$, 5,8 Hz, 1 H), 1,97 (s, 3 H), 1,96 (dd, $J = 6,0$, 5,8 Hz, 1 H), 1,23 (p, $J = 6,5$ Hz, 1 H), 0,87 (d, $J = 6,4$ Hz, 3 H), 0,85 (d, $J = 7,2$ Hz, 3 H). CL-EM: T_r (tiempo de retención): 3,09 min, EM: (EN) m/z 501,5 ($\text{M}+\text{H}^+$).

25

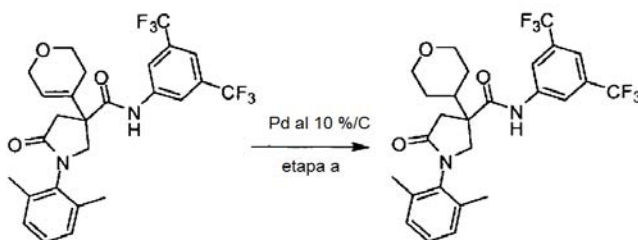
30

Ejemplo 11: Síntesis de (3,5-bis-Trifluorometilfenil)amida del ácido 3-(3,6-dihidro-2H-piran-4-il)-1-(2,6-dimetilfenil)-5-oxo-pirrolidin-3-carboxílico



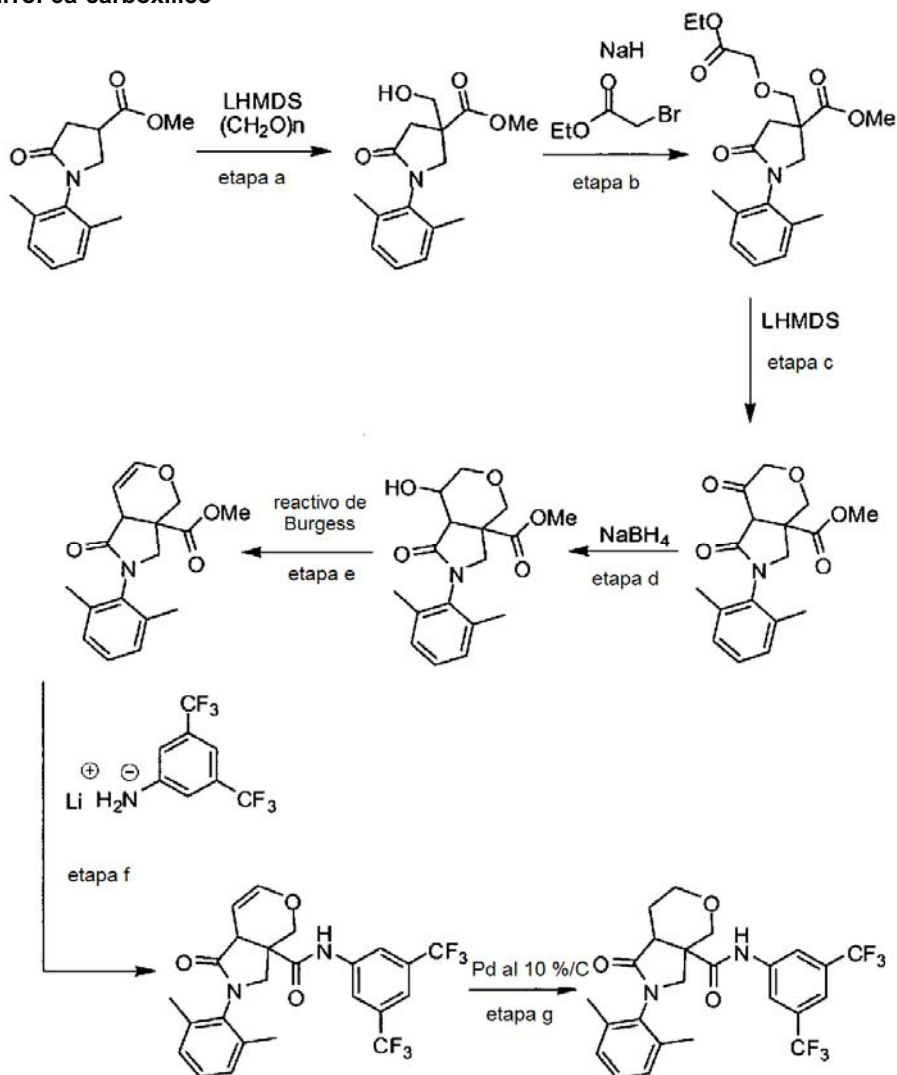
- 5 a) Se añadió bis(trimetilsilil)amida de litio (1,0 M en THF, 1,9 ml, 1,9 mmol) a una solución de éster metílico del ácido 1-(2,6-dimetilfenil)-5-oxo-pirrolidin-3-carboxílico (0,4 g, 1,6 mmol) en THF (16 ml) en un matraz de reacción a -78 °C. La reacción se agitó a -78 °C durante 5 min, seguido de la adición de tetrahidro-4H-piran-4-ona (0,4 g, 4,0 mmol). La reacción se calentó lentamente a temperatura ambiente durante 1 h. La reacción se interrumpió con ácido acético (1 ml). La mezcla se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (SiO₂, hexanos al 0-100 %/EtOAc) para dar el compuesto deseado con un rendimiento del 32 % (0,18 g). CL-EM: T_r (tiempo de retención): 1,32 min, EM: (EN) *m/z* 348,4 (M+H⁺).
- 10 b) Se añadió reactivo de Burgess (0,12 g, 0,2 mmol) a una solución del éster de la etapa a (0,15 g, 0,43 mmol) en THF (4 ml). La solución resultante se calentó a 75 °C durante 1 h. La mezcla se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (SiO₂, hexanos al 0-100 %/EtOAc) para dar el compuesto deseado con un rendimiento del 76 % (0,05 g). CL-EM: T_r (tiempo de retención): 1,86 min, EM: (EN) *m/z* 330,3 (M+H⁺).
- 15 c) Se añadió hidróxido de litio (1,0 M en H₂O, 1,5 ml, 1,5 mmol) a una solución del éster de la etapa b (0,05 g, 1,5 mmol) en MeOH (0,8 ml). La solución resultante se calentó a 75 °C durante 1 h. La solución se concentró a presión reducida para dar ¼ del volumen original y se añadió gota a gota HCl acuoso 6 M (~0,5 ml) para ajustar el pH a aproximadamente 4. La fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 x). Las fases orgánicas combinadas se secaron (MgSO₄) y se concentraron a presión reducida para dar el producto en bruto (0,041 g, 87 %). CL-EM: T_r (tiempo de retención): 1,15 min, EM: (EN) *m/z* 316,3 (M+H⁺).
- 20 d) Se añadieron ácido metanosulfónico (0,018 g, 0,15 mmol) e *i*Pr₂NEt (0,042 ml, 0,28 mmol) a una solución del ácido de la etapa c (0,041 g, 0,13 mmol) en THF (1,3 ml) a temperatura ambiente. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 5 min, seguido de la adición de 3,5-bis(trifluorometil)anilina (0,029, 0,13 mmol). La reacción se calentó a 75 °C hasta que se completó la reacción (18 h). La mezcla se concentró a presión reducida. La purificación por cromatografía ultrarrápida (SiO₂, hexanos al 0-75 %/EtOAc) dio el producto deseado con un rendimiento del 39 % (0,027). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ 10,17 (s, 1 H), 8,36 (s, 2 H), 7,80 (s, 1 H), 7,14-7,07 (m, 3 H), 5,92 (s, 1 H), 4,17-4,12 (m, 3 H), 3,74-3,71 (m, 2 H), 3,64-3,63 (m, 1 H), 3,16 (d, *J* = 16,4 Hz, 1 H), 2,93 (d, *J* = 16,4, 1 H), 2,12-2,01 (m, 2 H), 2,10 (s, 3 H), 2,03 (s, 3 H). CL-EM: T_r (tiempo de retención): 2,77 min, EM: (EN) *m/z* 527,5 (M+H⁺).
- 25
- 30
- 35

Ejemplo 12: Síntesis de (3,5-bis-trifluorometilfenil)amida del ácido 1-(2,6-dimetilfenil)-5-oxo-3-(tetrahidropiran-4-il)-pirrolidin-3-carboxílico



5 a) Se añadió Pd al 10 %/C (0,002 g) a una solución de amida (0,01 g, 0,019 mmol) en MeOH (1,9 ml) en un matraz de reacción y se agitó en una atmósfera de H₂ a temperatura ambiente durante 5 h. Después, la mezcla de reacción se filtró a través de Celite, se lavó con MeOH y el filtrado se concentró a presión reducida. La purificación por
10 cromatografía ultrarrápida (SiO₂, hexanos al 0-75 %/EtOAc) dio el producto deseado con un rendimiento del 100 % (0,01 g). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ 10,38 (s, 1 H), 8,36 (s, 2 H), 7,79 (s, 1 H), 7,12-7,06 (m, 3 H), 4,04 (d, J = 10,4 Hz, 1 H), 3,92-3,88 (m, 2 H), 3,75 (d, J = 10,8, 1 H), 3,28-3,23 (m, 2 H), 3,09 (d, J = 16,8 Hz, 1 H), 2,72 (d, J = 17,6 Hz, 1 H), 2,39 (s, 1 H), 2,14 (s, 3 H), 1,95 (s, 3 H), 1,62-1,51 (m, 2 H), 1,39-1,33 (m, 2 H). CL-EM: T_r (tiempo de retención): 2,72 min, EM: (EN) m/z 529,5 (M+H⁺).

15 **Ejemplo 13: Síntesis de (3,5-bis-trifluorometilfenil)amida del ácido 2-(2,6-dimetilfenil)-1-oxo-hexahidropirano[3,4-c]pirrol-3a-carboxílico**



20 a) Se añadió bis(trimetilsilil)amida de litio (1,0 M en THF, 24 ml, 24 mmol) a una solución de éster metílico del ácido 1-(2,6-dimetil- fenil)-5-oxo-pirrolidin-3-carboxílico (5 g, 20,2 mmol) en THF (40 ml) en un matraz de reacción a -50 °C.

La reacción se agitó a -50 °C durante 10 min, seguido de la adición de paraformaldehído (6 g, 200 mmol) en THF (10 ml). Después, la reacción se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 1 h. La reacción se interrumpió con NH₄Cl saturado. Las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 x). Las fases orgánicas combinadas se secaron (MgSO₄) y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (SiO₂, hexanos al 0-60 %/EtOAc) para dar el compuesto deseado con un rendimiento del 47 % (2,6 g). CL-EM: T_r (tiempo de retención): 0,81 min, EM: (EN) *m/z* 278,0 (M+H⁺).

b) Se añadió lentamente NaH (dispersión al 60 % en aceite mineral, 0,7 g, 17,3 mmol) a la solución del alcohol de la etapa a (4,0 g, 14,4 mmol) y bromo acetato de etilo (4,8 g, 29 mmol) en THF (72 ml) en un matraz de reacción a 0 °C. La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 18 h y se interrumpió con NH₄Cl saturado. Las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 x). Las fases orgánicas combinadas se secaron (MgSO₄) y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (SiO₂, hexanos al 0-45 %/EtOAc) para dar el compuesto deseado con un rendimiento del 56 % (2,9 g). CL-EM: T_r (tiempo de retención): 2,05 min, EM: (EN) *m/z* 364,4 (M+H⁺).

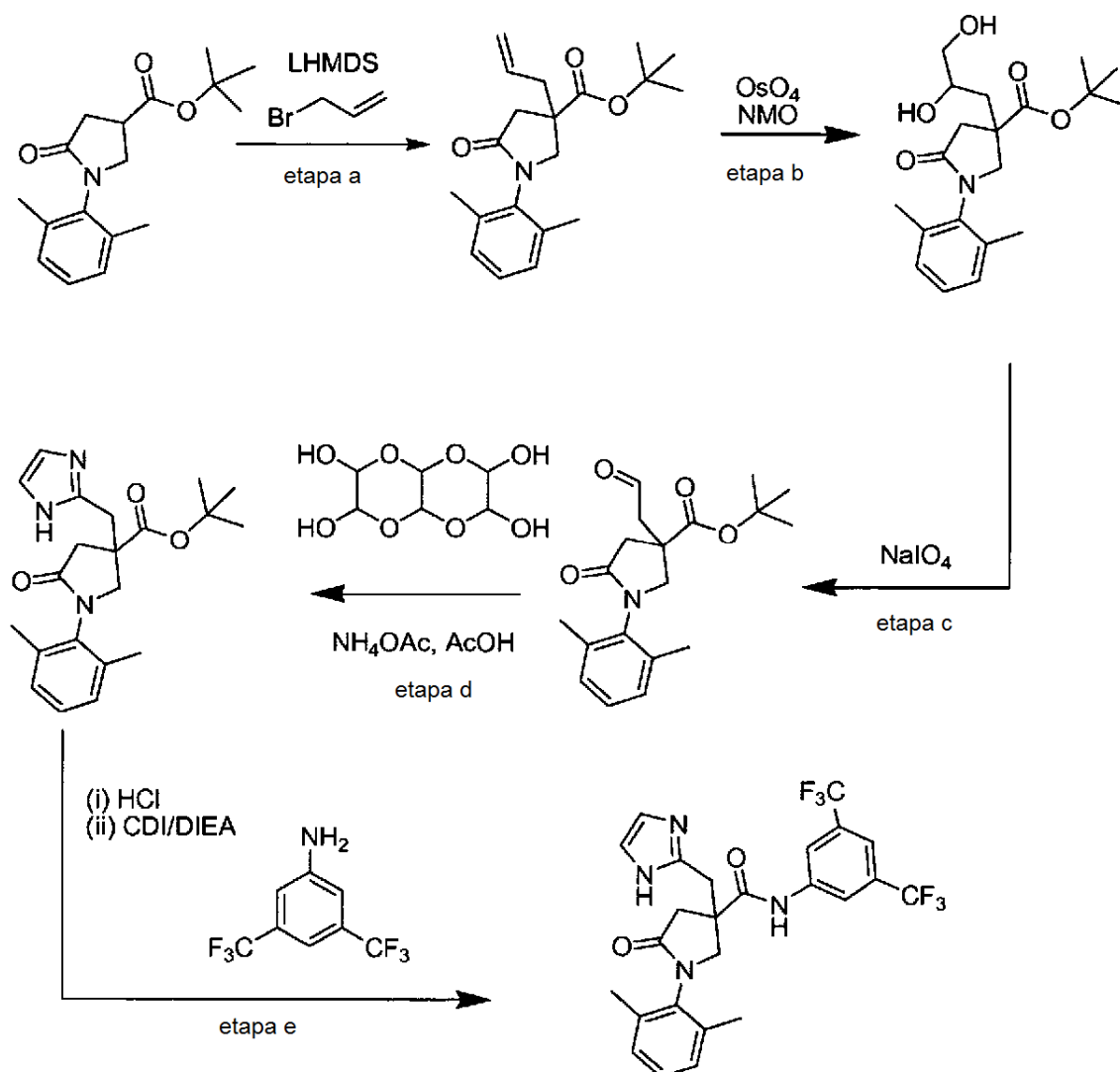
c) Se añadió bis(trimetilsilil)amida de litio (1,0 M en THF, 20 ml, 20 mmol) a la solución del éster de la etapa b (2,9 g, 8,1 mmol) en THF (80 ml) en un matraz de reacción a -78 °C. La reacción se agitó durante 1 h a -78 °C min y se interrumpió con NH₄Cl saturado. Las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 x). Las fases orgánicas combinadas se secaron (MgSO₄) y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (SiO₂, hexanos al 0-60 %/EtOAc) para dar el compuesto deseado con un rendimiento del 50 % (1,3 g). CL-EM: T_r (tiempo de retención): 1,74 min, EM: (EN) *m/z* 318,3 (M+H⁺).

d) Se añadió lentamente borohidruro sódico (0,053 g, 1,43 mmol) a la solución de la cetona de la etapa c (0,35 g, 1,1 mmol) en THF (11 ml) en un matraz de reacción a 0 °C. La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h y se interrumpió con H₂O (5 ml). Las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 x). Las fases orgánicas combinadas se secaron (MgSO₄) y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (SiO₂, hexanos al 0-70 %/EtOAc) para dar el compuesto deseado con un rendimiento del 83 % (0,29 g). CL-EM: T_r (tiempo de retención): 1,27 min, EM: (EN) *m/z* 320,3 (M+H⁺).

e) Se añadió reactivo de Burgess (0,73 g, 2,6 mmol) a una solución del alcohol de la etapa d (0,55 g, 1,7 mmol) en THF (17 ml). La solución resultante se calentó a 75 °C durante 2 h. La mezcla se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (SiO₂, hexanos al 0-100 %/EtOAc) para dar el compuesto deseado con un rendimiento del 46 % (0,25 g). CL-EM: T_r (tiempo de retención): 1,54 min, EM: (EN) *m/z* 302,3 (M+H⁺).

f) Se añadió n-BuLi (2,5 M en hexanos, 0,91 ml, 2,3 mmol) a una solución de 3,5-bis(trifluorometil)anilina (0,56 g, 2,5 mmol) en THF (4 ml) a -78 °C. La reacción se agitó a -78 °C durante 30 min y después se calentó a temperatura ambiente. Se siguió la adición del éster de la etapa e (0,25 g, 0,82 mmol) y la mezcla resultante se calentó a 75 °C durante 2 h. La mezcla se concentró a presión reducida. La purificación por cromatografía ultrarrápida (SiO₂, hexanos al 0-75 %/EtOAc) dio el producto deseado con un rendimiento del 7 % (0,027 g). CL-EM: T_r (tiempo de retención): 2,78 min, EM: (EN) *m/z* 499,4 (M+H⁺).

g) Se añadió Pd al 10 %/C (0,003 g) a la solución de amida (0,006 g, 0,012 mmol) en MeOH (1,2 ml) y EtOAc (1,2 ml) en un matraz de reacción y se agitó en H₂ a temperatura ambiente durante 24 h. Después, la mezcla de reacción se filtró a través de Celite, se lavó con MeOH y el filtrado se concentró a presión reducida. La purificación por cromatografía ultrarrápida (SiO₂, hexanos al 0-100 %/EtOAc) dio el producto deseado con un rendimiento del 83 % (0,005 g). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ 10,21 (s, 1 H), 8,33 (s, 2 H), 7,79 (s, 1 H), 7,16-7,08 (m, 3 H), 4,42 (d, *J* = 12,4 Hz, 1 H), 3,80 (d, *J* = 9,2, 2 H), 3,73 (d, *J* = 12,4, 1 H), 3,46 (d, *J* = 10,4, 1 H), 3,38-3,3 (m, 4 H), 2,24 (s, 3 H), 2,06 (s, 3 H). CL-EM: T_r (tiempo de retención): 2,79 min, EM: (EN) *m/z* 501,4 (M+H⁺).

Ejemplo 14: Síntesis de 3-((1H-imidazol-2-il)metil)-N-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1-(2,6-dimetilfenil)-5-oxopirrolidin-3-carboxamida

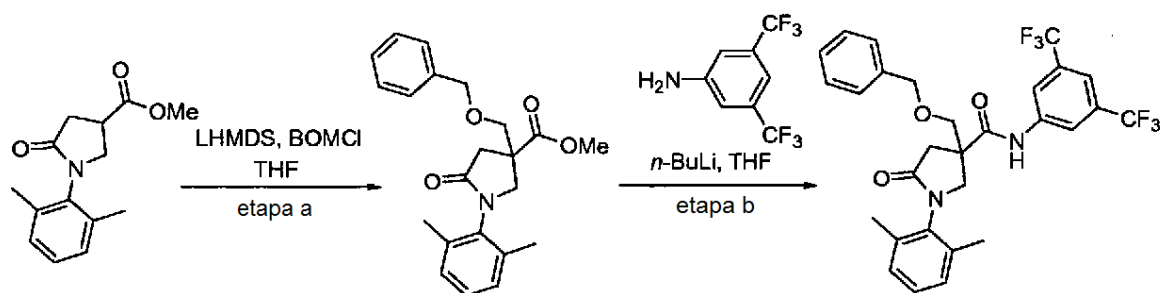
- 5 a) Se añadió bis(trimetilsilil)amida de litio (1,0 M en THF, 27 ml, 27 mmol) a una solución de éster *tert*-butilico del ácido 1-(2,6-dimetilfenil)-5-oxo-pirrolidin-3-carboxílico (7 g, 24,2 mmol) en THF (48 ml) en un matraz de reacción a -50 °C y se agitó durante 5 min. La reacción se elevó a 0 °C y se añadió bromuro de alilo (5,8 g, 48,4 mmol). Después, la
- 10 separación se calentó a temperatura ambiente, se agitó durante 2 h y se interrumpió con NH_4Cl saturado. Las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 x). Las fases orgánicas combinadas se secaron (MgSO_4) y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (SiO_2 , hexanos al 0-60 %/EtOAc) para dar el compuesto deseado con un rendimiento del 62 % (5,0 g). CL-EM: T_r (tiempo de retención): 2,68 min, EM: (EN) m/z 330,4 ($\text{M}+\text{H}^+$).
- 15 b) Se añadió OsO_4 (0,08 M en *t*-BuOH, 19 ml, 1,52 mmol) a una solución del éster de la etapa a (5,02 g, 15,2 mmol) y N-óxido de 4-metilmorfolina (2,6 g, 23 mmol) en *t*BuOH (88 ml), THF (22 ml) y H_2O (11 ml). La solución resultante se agitó a temperatura ambiente, se añadió metanol (2 ml) y la mezcla se diluyó con acetato de etilo (15 ml) y se lavó con agua.
- 20 c) Una solución de 3-(2,3-dihidroxiopropil)-1-(2,6-dimetilfenil)-5-oxopirrolidin-3-carboxilato de *tert*-butilo (1,2 g, 3,3 mmol) disuelto en THF (8 ml) se trató con NaIO_4 (1,4 g, 6,6 mmol) y agua (2 ml). Después de agitar durante una noche a temperatura ambiente, se añadió metanol (2 ml) y la mezcla se diluyó con acetato de etilo (15 ml) y se lavó con agua.
- 25 La fase acuosa se lavó con acetato de etilo y las fases orgánicas se combinaron, se secaron y el disolvente se evaporó. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (SiO_2 , EtOAc al 10-100 %/hexanos) para producir 1-(2,6-dimetilfenil)-5-oxo-3-(2-oxoetil)pirrolidin-3-carboxilato de *tert*-butilo (980 mg, rendimiento del 88 %). T_r de

CL-EM (tiempo de retención): 2,28 min, EM: (EN) m/z 332 ($M+H^+$).

d) Una mezcla de 1-(2,6-dimetilfenil)-5-oxo-3-(2-oxoetil)pirrolidin-3-carboxilato de *terc*-butilo (863 mg, 2,5 mmol), glicoxal trimero dihidrato (210 mg, 1,0 mmol), acetato amónico (635 mg, 8 mmol) y ácido acético (180 mg, 3 mmol) en THF-MeOH mixture (1:1, 10 ml) se agitó a 40 °C durante una noche. Después de enfriar a TA, la mezcla de reacción se diluyó con 25 ml de acetato de etilo y se lavó con agua (2 x 15 ml). La fase acuosa se extrajo de nuevo con acetato de etilo (15 ml). La fase orgánica combinada se secó y el disolvente se evaporó. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (SiO_2 , EtOAc al 10-100 %/hexanos) para producir 467 mg de 3-((1H-imidazol-2-il)metil)-1-(2,6-dimetilfenil)-5-oxopirrolidin-3-carboxilato de *terc*-butilo (rendimiento del 52 %). T_r de CL-EM (tiempo de retención): 0,51 min EM: (EN) m/z 370 ($M+H^+$).

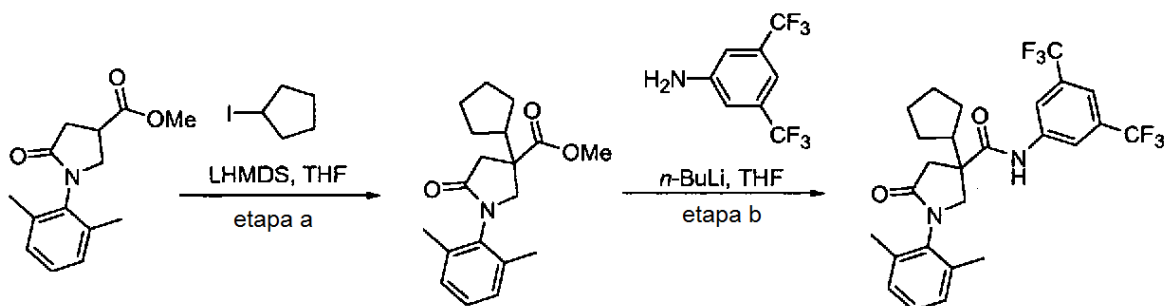
e) Se disolvió 3-((1H-imidazol-2-il)metil)-1-(2,6-dimetilfenil)-5-oxopirrolidin-3-carboxilato de *terc*-butilo preparado en la Etapa b anterior (460 mg, 1,2 mmol) en 4 ml de HCl 4 M en dioxano y se calentó a 60 °C durante 2 h. El disolvente se evaporó a sequedad y el residuo se suspendió en THF (5 ml) se trató con carbonil diimidazol (201 mg, 1,2 mmol) y diisopropiletilamina (626 μ l, 3,6 mmol) y se calentó a 40 °C durante 1 h. La mezcla de reacción caliente se trató con 3,5-bis(trifluorometil)anilina (550 mg, 2,4 mmol) y el calentamiento se continuó durante 2 h más. Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se diluyó con 25 ml de acetato de etilo y se lavó con agua. La fase orgánica se secó, el disolvente se evaporó y el residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (SiO_2 , MeOH al 0-15 %/DCM) para proporcionar 260 mg de 3-((1H-imidazol-2-il)metil)-N-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1-(2,6-dimetilfenil)-5-oxopirrolidin-3-carboxamida (rendimiento del 42 %). RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 2,14 (s, 3 H), 2,19 (s, 3 H), 2,52 (d, 1 H, $J = 17$ Hz), 3,28 (d, 1 H, $J = 17$ Hz), 3,38-3,42 (m, 3 H), 3,59 (d, 1 H, $J = 10,6$ Hz), 4,20 (d, 1 H, $J = 10,6$ Hz), 1,60 (s a, 2H), 7,00-7,20 (m, 3H), 7,57 (s, 1H), 8,18 (s, 2H). CL-EM: T_r (tiempo de retención) = 2,57 min, EM: (EN) m/z 525 ($M+H^+$).

Ejemplo 15: Síntesis de (3,5-bis-trifluorometilfenil)amida del ácido 3-benciloximetil-1-(2,6-dimetilfenil)-5-oxo-pirrolidin-3-carboxílico



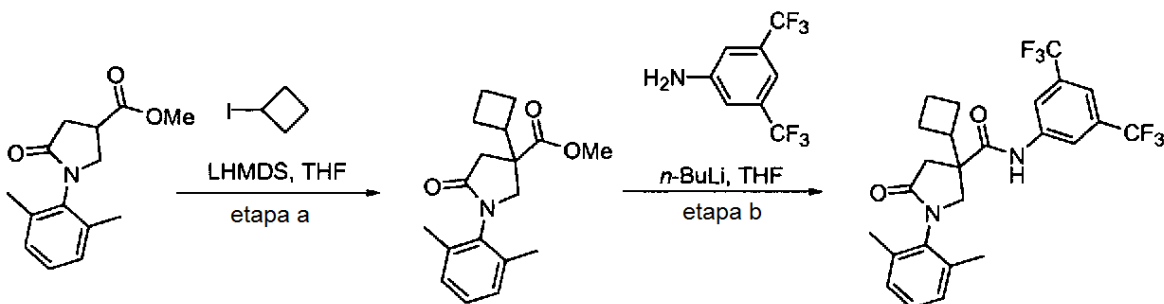
a) Se añadió lentamente LHMDS (solución 1 M en THF, 9,72 ml, 9,72 mmol) a una solución enfriada (-50 °C) de éster metílico del ácido 1-(2,6-dimetilfenil)-5-oxo-pirrolidin-3-carboxílico (2 g, 8,09 mmol) en THF (50 ml). La solución se agitó a -50 °C durante 5 min, después se calentó a 0 °C y se agitó durante 5 min más. Después de enfriar de nuevo a -50 °C, se añadió BOMCl (~90 % puro, 2,46 ml, 17,8 mmol) y la mezcla de reacción resultante se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 2 h. Se añadió una solución acuosa saturada de NH_4Cl (25 ml) y la solución acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 75 ml). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con agua (100 ml) y salmuera (100 ml), se secaron (Na_2SO_4) y se evaporaron. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida automatizada (SiO_2 , EtOAc al 10→50 %/hexanos) para dar éster metílico del ácido 3-benciloximetil-1-(2,6-dimetilfenil)-5-oxo-pirrolidin-3-carboxílico (653 mg, rendimiento del 22 %). CL-EM: R_f (tiempo de retención): 2,72 min, EM: (EN) m/z 368,1 ($M+H^+$).

b) Se añadió n-BuLi (solución 2,8 M en hexanos, 183 μ l, 0,513 mmol) a una solución enfriada (-50 °C) de 3,5-bis-trifluorometilfenilamina (84,5 μ l, 0,545 mmol) en THF (3 ml). La solución de color pardo oscuro resultante se calentó lentamente a temperatura ambiente y se agitó durante una hora. Se añadió una solución de éster metílico del ácido 3-benciloximetil-1-(2,6-dimetilfenil)-5-oxo-pirrolidin-3-carboxílico (preparado a partir de la etapa a, 100 mg, 0,27 mmol) en THF (2 ml) y la solución se agitó durante 2 h a 70 °C. Después, la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se añadió AcOH (100 μ l) y la solución se purificó por cromatografía ultrarrápida automatizada (SiO_2 , EtOAc al 10→50 %/hexanos), seguido de HPLC preparativa (gradiente de 15→85 % de MeCN- H_2O con TFA al 0,1 %). Las fracciones puras se liofilizaron para proporcionar (3,5-bis-trifluorometilfenil)-amida del ácido 3-benciloximetil-1-(2,6-dimetilfenil)-5-oxo-pirrolidin-3-carboxílico (15 mg, rendimiento del 10 %). CL-EM: T_r (tiempo de retención): 3,38 min, EM: (EN) m/z 565,2 ($M+H^+$). RMN 1H (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ 10,2 (s, 1 H), 8,28 (s, 2 H), 7,8 (s, 1 H), 7,2-7,28 (m, 5 H), 7,05-7,15 (m, 3 H), 4,5-4,58 (m, 2 H), 4,03 (d, 1 H, $J = 8$ Hz), 3,86-3,92 (m, 2H), 3,6 (d, 1 H, $J = 8$ Hz), 3,08 (d, 1 H, $J = 16$ Hz), 2,64 (d, 1 H, $J = 16$ Hz), 2,05 (s, 3 H), 2,06 (s, 3 H).

Ejemplo 16: Síntesis de (3,5-bis-trifluorometilfenil)amida del ácido 3-ciclopentil-1-(2,6-dimetilfenil)-5-oxo-pirrolidin-3-carboxílico

a) Se añadió lentamente LHMDS (solución 1 M en THF, 2,4 ml, 2,4 mmol) a una solución enfriada (-50 °C) de éster metílico del ácido 1-(2,6- dimetilfenil)-5-oxo-pirrolidin-3-carboxílico (494 mg, 2 mmol) en THF (5 ml). Se agitó a -50 °C durante 5 min, después se calentó a 0 °C y se agitó durante 5 min más. Después de enfriar de nuevo a -50 °C, se añadió yodociclopentano (462,5 µl, 4 mmol) y la mezcla de reacción resultante se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 2 h. Se añadió una solución acuosa saturada de NH₄Cl (10 ml) y la solución acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 25 ml). La fase orgánica combinada se lavó con agua (50 ml) y salmuera (50 ml), se secó (Na₂SO₄) y se evaporó. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (SiO₂, EtOAc al 20→50 %/hexanos) para dar éster metílico del ácido 3-ciclopentil-1-(2,6-dimetilfenil)-5- oxo-pirrolidin-3-carboxílico (120 mg, rendimiento del 19 %). CL-EM: T_r (tiempo de retención): 2,54 min, EM: (EN) *m/z* 316,4 (M+H⁺).

b) Se añadió n-BuLi (solución 2,5 M en hexanos, 456 µl, 1,14 mmol) a una solución de 3,5-bis-trifluorometilfenil)-amida del ácido 3-ciclopentil-1-(2,6-dimetilfenil)-5-oxo-pirrolidin-3-carboxílico (preparado de la etapa a, 120 mg, 0,38 mmol) en THF (2 ml) y se agitó durante 2 h a 70 °C. Después, la mezcla de reacción se purificó por cromatografía ultrarrápida automatizada. Las fracciones puras se combinaron y se concentraron a presión reducida. El material se recrystalizó en MeOH para obtener el producto deseado, (3,5-bis-trifluorometilfenil)-amida del ácido 3-ciclopentil-1-(2,6-dimetilfenil)-5-oxo-pirrolidin-3-carboxílico (60 mg, rendimiento del 31 %), en forma de cristales de color blanco. CL-EM: T_r (tiempo de retención): 3,32 min, EM: (EN) *m/z* 513,2 (M+H⁺). RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 8,4 (s, 1 H), 8,05 (s, 2 H), 7,6 (s, 1 H), 7,08-7,13 (m, 2 H), 7,02-7,06 (m, 2 H), 4,14 (d, 1 H, J = 11,5 Hz), 3,56 (d, 1 H, J = 11,5 Hz), 3,17 (d, 1 H, J = 16,9 Hz), 2,74 (d, 1 H, J = 16,9 Hz), 2,42-2,52 (m, 1 H), 2,2 (s, 3 H), 2,14 (s, 3 H), 1,75-1,88 (m, 2 H), 1,6-1,68 (m, 4 H), 1,25-1,48 (m, 2 H).

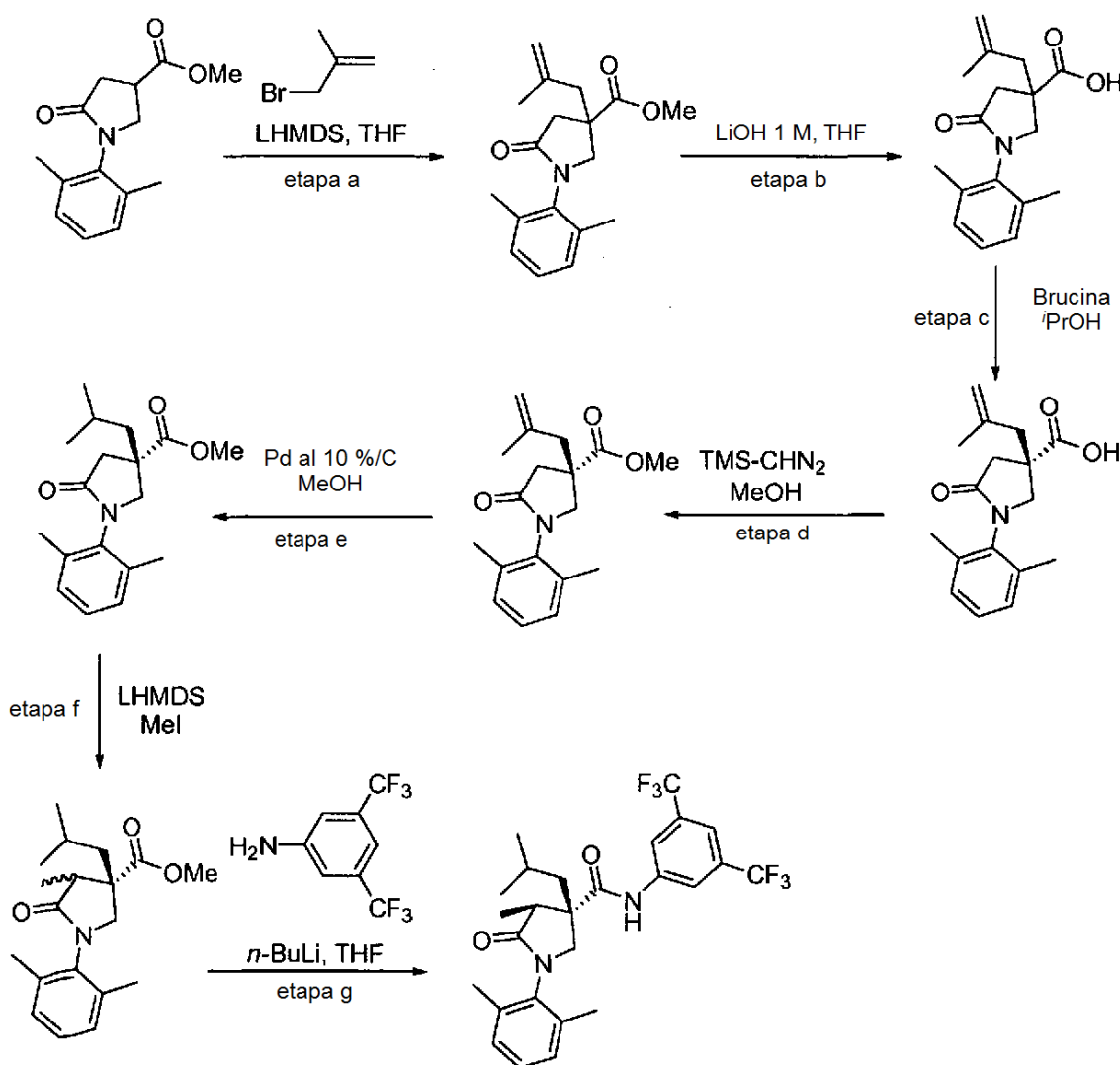
Ejemplo 17: Síntesis de (3,5-bis-trifluorometilfenil)-amida del ácido 3-ciclobutil-1-(2,6-dimetilfenil)-5-oxo-pirrolidin-3-carboxílico

a) Se añadió lentamente LHMDS (solución 1 M en THF, 2,4 ml, 2,4 mmol) a una solución enfriada (-50 °C) de éster metílico del ácido 1-(2,6- dimetilfenil)-5-oxo-pirrolidin-3-carboxílico (494 mg, 2 mmol) en THF (5 ml). Se agitó a -50 °C durante 5 min, después se calentó a 0 °C y se agitó durante 5 min. Después de enfriar de nuevo a -50 °C, se añadió yodociclobutano (736 mg, 4 mmol) y la mezcla de reacción resultante se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 2 h. Se añadió una solución acuosa saturada de NH₄Cl (10 ml), se extrajo con EtOAc (3 x 25 ml). La fase orgánica combinada se lavó con agua (50 ml) y salmuera (50 ml), se secó (Na₂SO₄) y se evaporó para dar el producto de éster metílico del ácido 3-ciclobutil-1-(2,6-dimetilfenil)-5-oxo-pirrolidin-3-carboxílico en bruto que se recogió directamente para la siguiente etapa. EM: (EN) *m/z* 302,3 (M+H⁺).

b) Se añadió n-BuLi (solución 2,5 M en hexanos, 1,13 ml, 2,82 mmol) a una solución de 3,5-bis-trifluorometilfenil)-anilina (437 µl, 2,82 mmol) en THF (5 ml) a temperatura ambiente. La solución de color pardo oscuro resultante se agitó

durante 10 min a temperatura ambiente. Se añadió una solución de éster metílico del ácido 3-ciclobutil-1-(2,6-dimetilfenil)-5-oxo-pirrolidin-3-carboxílico (preparado de la etapa a, 283 mg, 0,94 mmol) en THF (3 ml) y se agitó durante 30 min a 100 °C en un vial cerrado herméticamente. Se añadió una solución acuosa saturada de NH_4Cl (10 ml), se extrajo con EtOAc (3 x 25 ml). La fase orgánica combinada se lavó con agua (40 ml) y salmuera (40 ml), se secó (Na_2SO_4) y se evaporó. Después, la mezcla de reacción se purificó mediante cromatografía ultrarrápida automatizada (SiO_2 , EtOAc al 20→70 %/hexanos). Las fracciones seleccionadas se combinaron y se concentraron a presión reducida. El producto obtenido se purificó adicionalmente dos veces por HPLC preparativa (gradiente de 5→90 % de MeCN- H_2O con TFA al 0,1 %) para obtener el producto deseado, (3,5-bis-trifluorometilfenil)-amida del ácido 3-ciclobutil-1-(2,6-dimetilfenil)-5-oxo-pirrolidin-3-carboxílico (7 mg, rendimiento del 1,5 %). CL-EM: T_r (tiempo de retención): 3,17 min, EM: (EN) m/z 499,1 ($\text{M}+\text{H}^+$). RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 8,08 (s, 3 H), 7,63 (s, 1 H), 7,12-7,16 (m, 1 H), 7,04-7,09 (m, 2 H), 4,1,8 (d, 1 H, $J = 8,5$ Hz), 3,58 (d, 1 H, $J = 8,5$ Hz), 3,18 (d, 1 H, $J = 17$ Hz), 2,8 (d, 1 H, $J = 17$ Hz), 2,2 (s, 3 H), 2,17 (s, 3 H), 1,85-2,0 (m, 2 H), 0,68-0,8 (m, 1 H), 0,5-0,62 (m, 2 H), 0,15-0,2 (m, 2 H).

Ejemplo 18: Síntesis de (3,5-bis-trifluorometilfenil)-amida del ácido cis-1-(2,6-dimetilfenil)-3-isobutil-4-metil-5-oxo-pirrolidin-3-carboxílico



a) Se añadió lentamente LHMDS (solución 1 M en THF, 83 ml, 83 mmol) a una solución enfriada (-50 °C) de éster metílico del ácido 1-(2,6-dimetilfenil)-5-oxo-pirrolidin-3-carboxílico (17 g, 68,83 mmol) en THF (170 ml). Después de 5 min, se añadió lentamente 3-bromo-2-metilpropeno (13,8 ml, 136,8 mmol) a -50 °C y la mezcla de reacción resultante se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 2 h. Se añadió una solución acuosa saturada de NH_4Cl (50 ml) y el material acuoso se extrajo con EtOAc (3 x 100 ml). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con agua (100 ml) y salmuera (100 ml), se secaron (Na_2SO_4) y se evaporaron. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida automatizada (SiO_2 , MTBE al 20→60 %/hexanos) para dar éster metílico del ácido 1-(2,6-dimetilfenil)-3-(2-metilalil)-5-oxo-pirrolidin-3-carboxílico (10,9 g, rendimiento del 53 %). CL-EM: T_r (tiempo de retención): 2,44 min, EM: (EN) m/z 302,1 ($\text{M}+\text{H}^+$).

b) A una solución de éster metílico del ácido 1-(2,6-dimetilfenil)-3-(2-metilalil)-5-oxo-pirrolidin-3-carboxílico (preparado de la etapa a, 10,9 g, 36,21 mmol) en MeOH (100 ml) se le añadió LiOH 1 M (100 ml, 100 mmol) y la solución transparente resultante se calentó a reflujo (70 °C) durante una hora. Después, la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se retiró MeOH a presión reducida y la solución acuosa básica obtenida se añadió a HCl 2 N (200 ml) enfriado (0 °C) con agitación vigorosa. El sólido de color blanco resultante se filtró, se lavó con agua (3 x 300 ml), heptano (200 ml) y se secó a alto vacío para obtener ácido 1-(2,6-dimetilfenil)-3-(2-metilalil)-5-oxo-pirrolidin-3-carboxílico (10 g, rendimiento cuantitativo). CL-EM: T_r (tiempo de retención): 1,98 min, EM: (EN) m/z 288,1 ($M+H^+$).

c) A una mezcla de ácido 1-(2,6-dimetilfenil)-3-(2-metilalil)-5-oxo-pirrolidin-3-carboxílico (preparado de la etapa b, 9 g, 31,36 mmol) y brucina (12,37 g, 31,35 mmol) se le añadió i PrOH (75 ml) y se calentó con agitación a 75 °C hasta que se volvió una solución transparente, que después se dejó enfriar lentamente a temperatura ambiente. El sólido de color blanco resultante se filtró y se descartó. Después, el filtrado se diluyó con Et₂O (100 ml) y se lavó con HCl 2 N (2 x 100 ml), se secó (Na₂SO₄) y se concentró a presión reducida para obtener ácido (S)-1-(2,6-dimetilfenil)-3-(2-metilalil)-5-oxo-pirrolidin-3-carboxílico (550 mg, proporción enantiomérica: 9:1, determinándose la proporción enantiomérica usando una columna analítica quiral RegisWhelk® y un sistema de disolventes isocrático de EtOH al 10 % en hexanos, caudal: 1 ml/min, operación 30 min). La recrystalización adicional del derivado de ácido carboxílico anterior en tolueno caliente/dioxano (9:1, 14 ml) enriqueció la proporción enantiomérica a 99,2:0,8 y proporcionó 430 mg de ácido (S)-1-(2,6-dimetilfenil)-3-(2-metilalil)-5-oxo-pirrolidin-3-carboxílico.

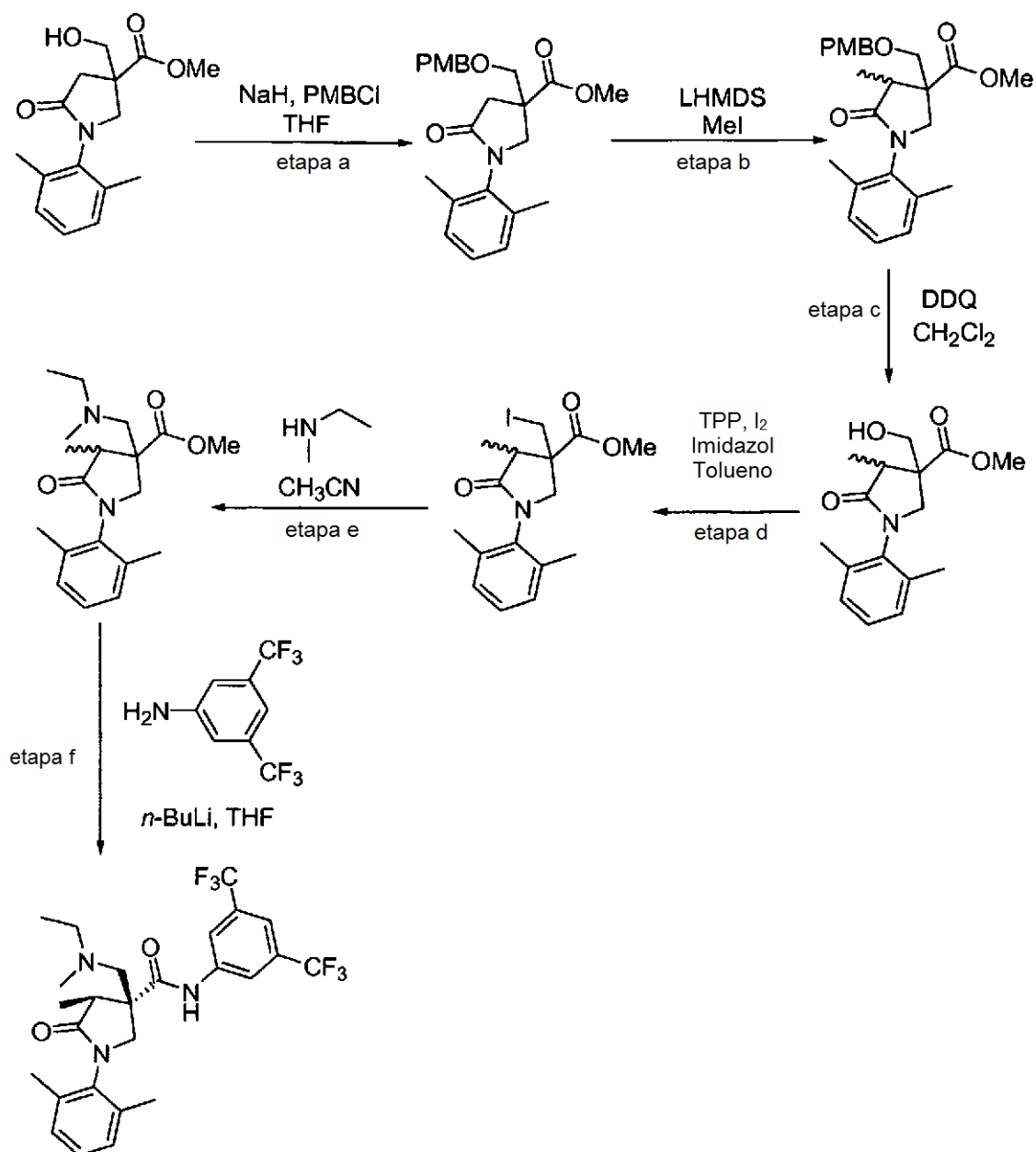
d) A una solución de ácido (S)-1-(2,6-dimetilfenil)-3-(2-metilalil)-5-oxo-pirrolidin-3-carboxílico (preparado de c, 430 mg, 1,49 mmol) en MeOH (5 ml) se le añadió gota a gota TMS-CHN₂ (2,24 ml, 4,49 mmol, solución 2 M en hexanos). Después de agitar la solución transparente de color amarillo a temperatura ambiente durante 10 min, se retiró MeOH a presión reducida y la solución se diluyó con EtOAc (50 ml) y se lavó con una solución saturada de NaHCO₃ (25 ml), agua (25 ml) y salmuera (25 ml), se secó (Na₂SO₄) y se evaporó para obtener éster metílico del ácido (S)-1-(2,6-dimetilfenil)-3-(2-metilalil)-5-oxo-pirrolidin-3-carboxílico (474 mg) que se usó como tal en la siguiente etapa sin purificación adicional. CL-EM: T_r (tiempo de retención): 2,14 min, EM: (EN) m/z 302,3 ($M+H^+$).

e) Se añadió Pd al 10%/C (120 mg) a una solución de éster metílico del ácido (S)-1-(2,6-dimetilfenil)-3-(2-metilalil)-5-oxo-pirrolidin-3-carboxílico (preparado de la etapa d, 474 mg, 1,57 mmol) en MeOH (5 ml) y la suspensión de color negro resultante se agitó a temperatura ambiente durante una noche en una atmósfera de gas de H₂ usando un globo. Después, la mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (25 ml) y se filtró a través de Celite, se lavó con MeOH (25 ml) y los materiales volátiles del filtrado se evaporaron para obtener un producto en bruto que se purificó por cromatografía ultrarrápida (SiO₂, EtOAc al 20→60 %/hexanos) para obtener éster metílico del ácido (S)-1-(2,6-dimetilfenil)-3-isobutil-5-oxo-pirrolidin-3-carboxílico (450 mg, rendimiento del 94 %). CL-EM: T_r (tiempo de retención): 2,55 min, EM: (EN) m/z 304,1 ($M+H^+$).

f) Se añadió lentamente LHMDs (solución 1 M en THF, 1,78 ml, 1,78 mmol) a una solución enfriada (-50 °C) de éster metílico del ácido (S)-1-(2,6-dimetilfenil)-3-isobutil-5-oxo-pirrolidin-3-carboxílico (preparado de la etapa e, 450 mg, 1,48 mmol) en THF (10 ml). Después de 5 min, se añadió yodometano (185 μ l, 2,97 mmol) a -50 °C y la mezcla de reacción resultante se calentó inmediatamente a temperatura ambiente y se agitó durante 2 h más. Se añadió una solución acuosa saturada de NH₄Cl (25 ml) y la solución se extrajo con EtOAc (3 x 50 ml). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con agua (50 ml) y salmuera (50 ml), se secaron (Na₂SO₄) y se evaporaron. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (SiO₂, MTBE al 20→60 %/hexanos) para dar éster metílico del ácido (S)-1-(2,6-dimetilfenil)-3-isobutil-4-metil-5-oxo-pirrolidin-3-carboxílico (130 mg, rendimiento del 28 %). CL-EM: T_r (tiempo de retención): 2,68 min, EM: (EN) m/z 318,2 ($M+H^+$).

g) Se añadió n -BuLi (solución 2,5 M en hexanos, 0,492 ml, 1,23 mmol) a una solución de 3,5-bis-trifluorometilnilina (492 μ l, 1,23 mmol) en THF (3 ml) a temperatura ambiente. La solución de color pardo oscuro resultante se agitó durante 10 min a temperatura ambiente. Se añadió una solución de éster metílico del ácido (S)-1-(2,6-dimetilfenil)-3-isobutil-4-metil-5-oxo-pirrolidin-3-carboxílico (preparado de la etapa f, 130 mg, 0,41 mmol) en THF (3 ml) y se agitó durante una noche a 75 °C en un vial cerrado herméticamente. Se añadió una solución acuosa saturada de NH₄Cl (10 ml) y la solución se extrajo con EtOAc (3 x 25 ml). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con agua (30 ml) y salmuera (30 ml), se secaron (Na₂SO₄) y se evaporaron. Después, la mezcla de reacción se purificó por cromatografía ultrarrápida (SiO₂, EtOAc al 20→70 %/hexanos). Las fracciones seleccionadas se combinaron y se concentraron a presión reducida. El producto obtenido se purificó adicionalmente por HPLC preparativa (gradiente de 50→90 % de MeCN-H₂O con TFA al 0,1 %) y las fracciones puras se liofilizaron para obtener el producto deseado, (3,5-bis-trifluorometilfenil)-amida del ácido *cis*-1-(2,6-dimetilfenil)-3-isobutil-4-metil-5-oxo-pirrolidin-3-carboxílico (45 mg, rendimiento del 21 %). CL-EM: T_r (tiempo de retención): 3,26 min, EM: (EN) m/z 515,2 ($M+H^+$). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10,38 (s, 1 H), 8,35 (s, 2 H), 7,8 (s, 1 H), 7,02-7,14 (m, 3 H), 4,04 (d, 1 H, J = 9,9 Hz), 3,68 (d, 1 H, J = 9,9 Hz), 3,05 - 3,13 (m, 1 H), 2,12 (s, 3 H), 1,98 (s, 3 H), 1,78-1,95 (m, 2 H), 1,53-1,65 (m, 1 H), 1,3 (d, 3 H, J = 7,4 Hz), 0,82-0,88 (m, 6 H).

Ejemplo 19: Síntesis de (3,5-bis-trifluorometilfenil)-amida del ácido *cis*-1-(2,6-dimetilfenil)-3-[(etilmetilamino)-etil]-4-metil-5-oxo-pirrolidin-3-carboxílico



5 a) Se añadió lentamente NaH (60 % dispersado en aceite mineral, 260 mg, 5,41 mmol) a una solución enfriada (0 °C) de éster metílico del ácido 1-(2,6-dimetilfenil)-3-hidroximetil-5-oxo-pirrolidin-3-carboxílico (preparado en los ejemplos anteriores, 1 g, 3,61 mmol) en THF (10 ml). Después de agitar durante 5 min, se añadió PMBCl (737 µl, 5,41 mmol) y la mezcla de reacción resultante se calentó lentamente a temperatura ambiente y se agitó durante 2 h más. Se añadió una solución acuosa saturada de NH₄Cl (10 ml) y la solución se extrajo con EtOAc (3 x 25 ml). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con agua (30 ml) y salmuera (30 ml), se secaron (Na₂SO₄) y se evaporaron. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (SiO₂, EtOAc al 10→60 %/hexanos) para dar éster metílico del ácido 1-(2,6-dimetilfenil)-3-(4-metoxi-benciloximetil)-5-oxo-pirrolidin-3-carboxílico (767 mg, rendimiento del 54 %). CL-EM: T_r (tiempo de retención): 2,37 min, EM: (EN) m/z 398,3 (M+H⁺).

15 b) Se añadió lentamente LHMDS (solución 1 M en THF, 2,32 ml, 2,32 mmol) a una solución enfriada (-50 °C) de éster metílico del ácido 1-(2,6-dimetilfenil)-3-(4-metoxibenciloximetil)-5-oxo-pirrolidin-3-carboxílico (preparado de la etapa a, 767 mg, 1,93 mmol) en THF (7 ml). Después de 5 min, se añadió yodometano (602 µl, 9,65 mmol) a -50 °C y la mezcla de reacción resultante se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 2 h más. Se añadió una solución acuosa saturada de NH₄Cl (25 ml) y la solución se extrajo con EtOAc (3 x 50 ml). Las fases orgánicas combinadas se lavaron

20

con agua (75 ml) y salmuera (75 ml), se secaron (Na_2SO_4) y se evaporaron. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (SiO_2 , EtOAc al 20→70 %/hexanos) para dar éster metílico del ácido 1-(2,6-dimetilfenil)-3-(4-metoxibenciloximetil)-4-metil-5-oxo-pirrolidin-3-carboxílico (736 mg, rendimiento del 93 %). CL-EM: T_r (tiempo de retención): 2,39 min, EM: (EN) m/z 412,4 ($\text{M}+\text{H}^+$).

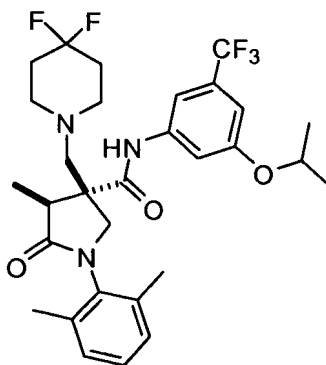
c) A una mezcla en agitación vigorosa de éster metílico del ácido 1-(2,6-dimetilfenil)-3-(4-metoxibenciloximetil)-4-metil-5-oxo-pirrolidin-3-carboxílico (preparado de la etapa b, 736 mg, 1,79 mmol) en 5:1 de $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{H}_2\text{O}$ (12 ml) se le añadió 2,3-dicloro-5,6-dicianobenzoquinona (609,5 mg, 2,68 mmol) a temperatura ambiente y se agitó durante 2 h a la misma temperatura. La mezcla de reacción se diluyó con CH_2Cl_2 (25 ml) y se filtró a través de Celite, se lavó con CH_2Cl_2 (3 x 25 ml). Después, el filtrado se lavó con una solución saturada de NaHCO_3 (3 x 30 ml), agua (30 ml) y salmuera (30 ml), se secó y se evaporó. El residuo obtenido se purificó por cromatografía ultrarrápida (SiO_2 , EtOAc al 20→70 %/hexanos) para dar éster metílico del ácido 1-(2,6-dimetilfenil)-3-hidroximetil-4-metil-5-oxo-pirrolidin-3-carboxílico (373 mg, rendimiento del 72 %). CL-EM: T_r (tiempo de retención): 1,2 min, EM: (EN) m/z 292,2 ($\text{M}+\text{H}^+$).

d) Se añadieron secuencialmente imidazol (261,5 mg, 3,84 mmol), trifenilfosfina (670,7 mg, 2,56 mmol) e I_2 (487,3 mg, 1,92 mmol) a una solución de éster metílico del ácido 1-(2,6-dimetilfenil)-3-hidroximetil-4-metil-5-oxo-pirrolidin-3-carboxílico (preparado de la etapa c, 373 mg, 1,28 mmol) en tolueno (15 ml) y la mezcla de reacción resultante se calentó a 100 °C con agitación durante una hora. Después, la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se diluyó con EtOAc (50 ml), se lavó con agua (30 ml), NH_4Cl saturado (30 ml), se secó (Na_2SO_4) y se evaporó. Después, el residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (SiO_2 , 20→70 % EtOAc/hexanos) para obtener éster metílico del ácido 1-(2,6-dimetilfenil)-3-yodometil-4-metil-5-oxo-pirrolidin-3-carboxílico (427 mg, rendimiento 83 %). CL-EM: T_r (tiempo de retención): 2,32 min, EM: (EN) m/z 402,2 ($\text{M}+\text{H}^+$).

e) A una solución de éster metílico del ácido 1-(2,6-dimetilfenil)-3-yodometil-4-metil-5-oxo-pirrolidin-3-carboxílico (preparado de la etapa d, 100 mg, 0,25 mmol) en CH_3CN (3 ml) se le añadió *N*-etilmetilamina (215 μl , 2,5 mmol) y se agitó a 80 °C durante una noche. Los volátiles se evaporaron a presión reducida y se purificaron por cromatografía ultrarrápida automatizada (SiO_2 , EtOAc al 20→70 %/hexanos) para obtener éster metílico del ácido 1-(2,6-dimetilfenil)-3-[(etilmetilamino)-metil]-4-metil-5-oxo-pirrolidin-3-carboxílico (10 mg, rendimiento del 12 %). CL-EM: T_r (tiempo de retención): 0,61 min, EM: (EN) m/z 333,3 ($\text{M}+\text{H}^+$).

f) Se añadió *n*-BuLi (solución 2,5 M en hexanos, 50 μl , 0,09 mmol) a una solución de 3,5-bis-trifluorometilnilina (20 μl , 0,09 mmol) en THF (2 ml) a temperatura ambiente. La solución de color pardo oscuro resultante se agitó durante 10 min a temperatura ambiente. Se añadió una solución de éster metílico del ácido 1-(2,6-dimetilfenil)-3-[(etilmetilamino)metil]-4-metil-5-oxo-pirrolidin-3-carboxílico (preparado de la etapa e, 10 mg, 0,03 mmol) en THF (2 ml) y se agitó durante 2 h a 70 °C en un vial cerrado herméticamente. Se añadió una solución acuosa saturada de NH_4Cl (10 ml) y la solución se extrajo con EtOAc (3 x 25 ml). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con agua (20 ml) y salmuera (20 ml), se secaron (Na_2SO_4) y se evaporaron. El residuo se purificó por HPLC preparativa (gradiente de 50→90 % de $\text{MeCN}-\text{H}_2\text{O}$ con TFA al 0,1 %) y las fracciones puras se liofilizaron para obtener el producto deseado, (3,5-bis-trifluorometilfenil)-amida del ácido *cis*-1-(2,6-dimetilfenil)-3-[(etilmetilamino)metil]-4-metil-5-oxo-pirrolidin-3-carboxílico (5 mg, rendimiento 25 %). CL-EM: T_r (tiempo de retención): 2,9 min, EM: (EN) m/z 530,5 ($\text{M}+\text{H}^+$). RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 10,75 (s, 1 H), 8,26 (s, 2 H), 7,65 (s, 1 H), 7,16-7,2 (m, 1 H), 7,05-7,1 (m, 2 H), 4,26 (d, 1 H, $J = 10,7$ Hz), 4,0 (d, 1 H, $J = 10,7$ Hz), 3,55-3,62 (m, 1 H), 3,34-3,44 (m, 2 H), 3,15-3,28 (m, 2 H), 2,85 (s, 3 H), 2,24 (s, 3 H), 2,13 (s, 3 H), 1,54 (d, 3 H, $J = 7,14$ Hz), 1,39 (t, 3 H, $J = 6,5$ Hz).

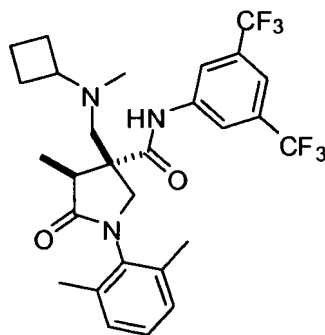
Ejemplo 20, (3*R*,4*S*)-3-((4,4-difluoropipendm-1-il)metil)-1-(2,6-dimetilfenil)-*N*-(3-isopropoxi-5-(trifluorometil)-fenil)-4-metil-5-oxopirrolidin-3-carboxamida



Se preparó

(3*R*,4*S*)-3-((4,4-difluoropiperidin-1-il)metil)-1-(2,6-dimetilfenil)-*N*-(3-isopropoxi-5-(trifluorometil)fenil)-4-metil-5-oxopirrolidin-3-carboxamida de una manera similar al Ejemplo 19. RMN ¹H (400 MHz, DMSO): δ 9,93 (s, 1 H), 7,55 (d, *J* = 11,7 Hz, 2 H), 7,07-7,14 (m, 3 H), 6,91 (s, 1 H), 4,65 (septuplete, *J* = 5,9 Hz, 1 H), 4,07 (d, *J* = 10,3 Hz, 1 H), 3,79 (d, *J* = 10,3 Hz, 1 H), 3,04-3,13 (m, 2 H), 2,90 (d, *J* = 13,9 Hz, 1 H), 2,50-2,59 (m, 4 H), 2,17 (s, 3 H), 2,06 (s, 3 H), 1,74-1,94 (m, 4 H), 1,26-1,32 (m, 9 H). T_r de CL-EM (tiempo de retención): 2,96 min; EM: (EN) *m/z* 583 (M+H⁺).

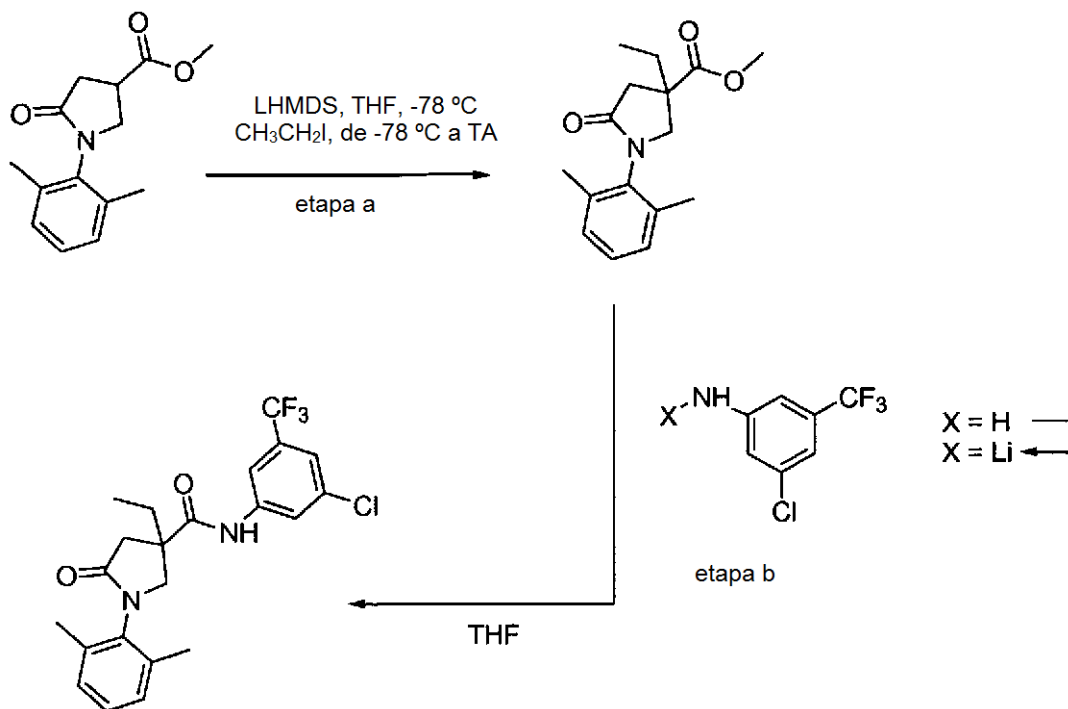
Ejemplo 21, (3*R*,4*S*)-*N*-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-3-((ciclobutil(metil)amino)metil)-1-(2,6-dimetilfenil)-4-metil-5-oxopirrolidin-3-carboxamida



Se preparó

(3*R*,4*S*)-*N*-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-3-((ciclobutil(metil)amino)metil)-1-(2,6-dimetilfenil)-4-metil-5-oxopirrolidin-3-carboxamida de una manera similar al Ejemplo 19. RMN ¹H (400 MHz, DMSO): δ 10,6 (s, 1 H), 8,30 (s, 2 H), 7,81 (s, 1 H), 7,05-7,15 (m, 3 H), 4,13 (d, *J* = 10,3 Hz, 1 H), 3,79 (d, *J* = 9,9 Hz, 1 H), 3,11 (c, *J* = 7,3 Hz, 1 H), 2,97 (d, *J* = 13,6 Hz, 1 H), 2,86 (p, *J* = 7,7 Hz, 1 H), 2,64 (d, *J* = 13,6 Hz, 1 H), 2,16 (s, 3 H), 2,04 (s, 3 H), 2,01 (s, 3 H), 1,88-1,97 (m, 2 H), 1,66 (p, *J* = 8,9 Hz, 2 H), 1,42-1,52 (m, 2 H), 1,32 (d, *J* = 7,3 Hz, 3 H). T_r de CL-EM (tiempo de retención): 2,33 min; EM: (EN) *m/z* 556 (M+H⁺).

Ejemplo 22: Síntesis de *N*-(3-cloro-5-(trifluorometil)fenil)-3-etil-1-(2,6-dimetilfenil)-5-oxopirrolidin-3-carboxamida

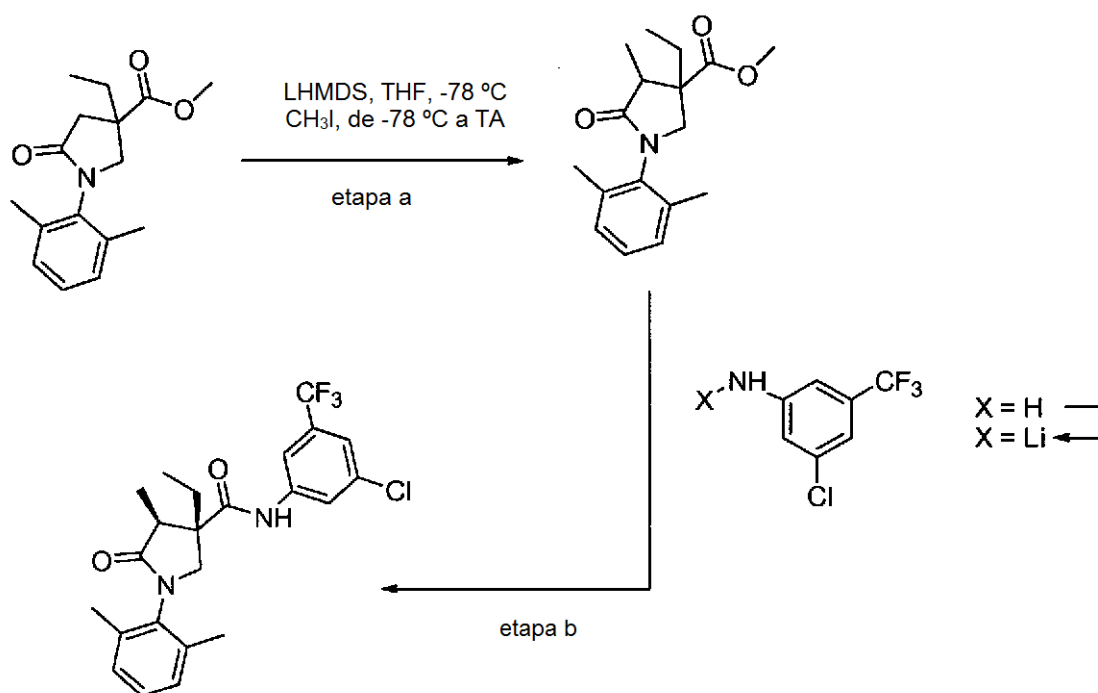


a) Una solución de LHMDS (1 M en THF, 39 ml, 39 mmol) se añadió a una solución de 1-(2,6-dimetilfenil)-5-oxopirrolidin-3-carboxilato de metilo (9,2 g, 37 mmol) en THF (150 ml) a -78 °C. Después de agitar a la misma temperatura durante 45 min, se añadió de una sola vez todo el yodoetano (200 ml, 63 mmol). El baño de refrigeración

se retiró y la mezcla de reacción se dejó calentar a temperatura ambiente. Después de 4 h, la mezcla de reacción se inactivó con NH_4Cl acuoso saturado. La fase acuosa se extrajo con acetato de etilo y las fases orgánicas combinadas se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo resultante se purificó por cromatografía ultrarrápida (SiO_2 , EtOAc al 30-50 %/hexanos) para obtener el producto deseado con un rendimiento del 59 % (5,99 g). T_r de CL-EM (tiempo de retención): 2,23 min, EM: (EN) m/z 276 ($\text{M}+\text{H}^+$).

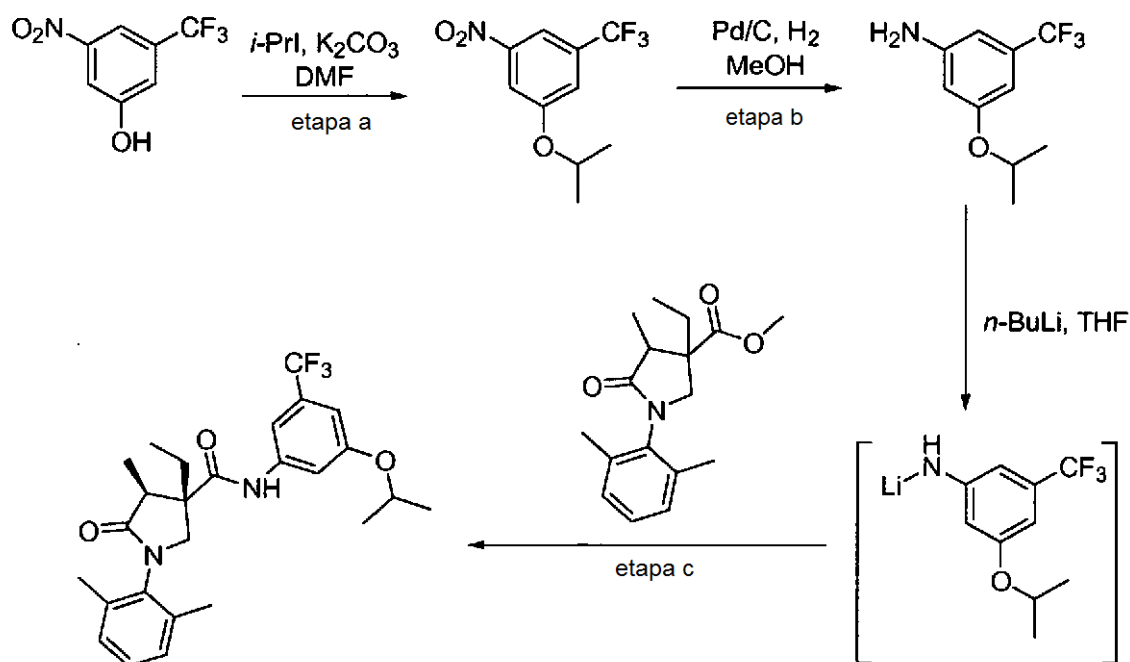
b) A una solución de 3-cloro-5-trifluorometilfenil (94 mg, 0,48 mmol) disuelta en THF (1 ml) se le añadió una solución de n-butil litio (2,5 M en hexanos, 0,20 ml, 0,50 mmol). Después de 5 minutos, esta solución se añadió a una solución del éster preparada en la etapa a (60 mg, 0,22 mmol) en THF (1 ml). La mezcla de reacción se agitó durante 10 h, tiempo después del cual se inactivó con NH_4Cl acuoso saturado, se diluyó con acetato de etilo, se lavó con NaCl acuoso saturado, se secó sobre MgSO_4 , se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo resultante se purificó por cromatografía ultrarrápida (SiO_2 , EtOAc al 10-80 %/hexanos) para obtener el producto deseado con un rendimiento del 59 % (124 mg). RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD): δ 8,01 (s, 1 H), 7,91 (s, 1 H), 7,41 (s, 1 H), 7,1 (m, 3 H), 4,13 (d, 1 H, $J = 12$ Hz) 3,67 (d, 1 H, $J = 12$ Hz) 3,25 (d, 1 H, $J = 18$ Hz), 2,23 (s, 3 H), 2,12 (s, 3 H), 2,10 (m, 2 H), 0,98 (t, 3 H, $J = 18$ Hz). T_r de CL-EM (tiempo de retención): 3,03 min, EM: (EN) m/z 439 ($\text{M}+\text{H}^+$).

Ejemplo 23: Síntesis de *cis*-N-(3-cloro-5-(trifluorometil)fenil)-3-etil-4-metil-1-(2,6-dimetilfenil)-5-oxopirrolidin-3-carboxamida



a) Se añadió una solución de LHMDS (1 M en THF, 12 ml, 12 mmol) a una solución de 3-etil-1-(2,6-dimetilfenil)-5-oxopirrolidin-3-carboxilato de metilo (3,0 g, 11 mmol) en THF (30 ml) a -78 °C. Después de agitar a la misma temperatura durante 20 min, se añadió yodometano (2,5 ml, 40 mmol). El baño de refrigeración se retiró y la mezcla de reacción se dejó calentar a temperatura ambiente. Después de 1 h, la mezcla de reacción se inactivó con NH_4Cl acuoso saturado. La fase acuosa se extrajo con acetato de etilo y las fases orgánicas combinadas se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo resultante se purificó por cromatografía ultrarrápida (SiO_2 , EtOAc al 30 %/hexanos) para obtener el producto deseado con un rendimiento del 76 % (2,38 g). T_r de CL-EM (tiempo de retención): 2,37 min, EM: (EN) m/z 230 ($\text{M}+\text{H}^+$).

b) A una solución de 3-cloro-5-trifluorometilfenil (94 mg, 0,48 mmol) disuelta en THF (1 ml) se le añadió una solución de n-butil litio (2,5 M en hexanos, 0,20 ml, 0,50 mmol). Después de 5 minutos, esta solución se añadió a una solución del éster preparada en la etapa a (64 mg, 0,22 mmol) en THF (1 ml). La mezcla de reacción se calentó a 60 °C durante 2 h, tiempo después del cual se inactivó con NH_4Cl acuoso saturado, se diluyó con acetato de etilo, se lavó con NaCl acuoso saturado, se secó sobre MgSO_4 , se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por HPLC preparativa de fase inversa (gradiente de 15-95 % de $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ con modificador de TFA al 0,1 %) y se secó (lofilizador) para dar el diastereoisómero principal indicado con un rendimiento del 33 % (60 mg). RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD): δ 8,01 (s, 1 H), 7,91 (s, 1 H), 7,41 (s, 1 H), 7,1 (m, 3 H), 4,13 (d, 1 H, $J = 11$ Hz), 3,70 (d, 1 H, $J = 11$ Hz), 3,21 (c, $J = 8$ Hz), 2,20 (s, 3 H), 2,11 (s, 3 H), 2,05 (m, 2 H), 1,49 (d, 3 H, $J = 8$ Hz), 0,94 (t, 3 H, $J = 7$ Hz). T_r de CL-EM (tiempo de retención): 3,11 min, EM: (EN) m/z 453 ($\text{M}+\text{H}^+$).

Ejemplo 24: Síntesis de *cis*-3-etil-*N*-(3-(trifluorometil)-5-isopropoxifenil)-4-metil-1-(2,6-dimetilfenil)-5-oxopirrolidin-3-carboxamida

5

a) A una solución de 3-nitro-5-trifluorometilfenol (250 mg, 1,2 mmol) disuelto en DMF (3 ml) se le añadió 2-yodopropano (0,50 ml, 5,0 mmol), seguido de K_2CO_3 (640 mg, 4,6 mmol). La mezcla se agitó durante 24 horas, tiempo después del cual se comprobó la TLC, mostrando la consumición completa del material de partida y la formación de un único nuevo producto. Se DMF retiró al vacío y la mezcla de reacción se recogió en éter, se filtró a través de Celite y se concentró para obtener un residuo sólido, que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional. F_r de TLC (factor de retención) = 0,67 (EtOAc al 20 %/hexanos).

10

b) A una solución de 3-(2'-propiloxi)-5-nitrobenzotrifluoruro (0,80 g, 3,2 mmol) en metanol (100 ml) se le añadió paladio sobre carbono (10 %p, húmedo, tipo Degussa E101 NE/W, 100 mg) y la solución se hidrógeno en una atmósfera de globo de hidrógeno (1 atm) durante 24 h. La mezcla de reacción se filtró a través de Celite y la torta se aclaró con metanol. El filtrado se concentró y el residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (SiO_2 , EtOAc al 20 %/hexanos) para dar el compuesto puro con un rendimiento del 88 % (620 mg). T_r de CL-EM (tiempo de retención): 2,48 min; EM: (EN) m/z 220 ($M+H^+$).

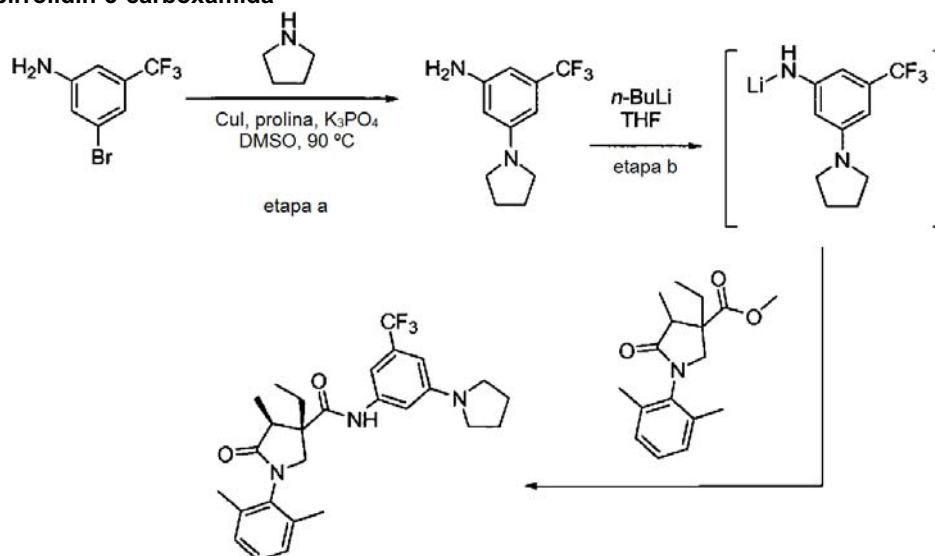
15

c) A una solución de 3-(2'-propiloxi)-5-aminobenzotrifluoruro (105 mg, 0,48 mmol) disuelto en THF (1 ml) se le añadió una solución de *n*-butil litio (2,5 M en hexanos, 0,20 ml, 0,50 mmol). Después de 5 minutos, esta solución se añadió a una solución de 3-etil-4-metil-1-(2,6-dimetilfenil)-5-oxopirrolidin-3-carboxilato de metilo (preparación como se ha descrito previamente) (56 mg, 0,19 mmol) en THF (1 ml). La mezcla de reacción se calentó a 60 °C durante 2 h, tiempo después del cual se inactivó con NH_4Cl acuoso saturado, se diluyó con acetato de etilo, se lavó con $NaCl$ acuoso saturado, se secó sobre $MgSO_4$, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (SiO_2 , EtOAc al 0-20 %/hexanos), seguido de recristalización (EtOAc/tolueno/hexanos) para obtener el compuesto deseado con un rendimiento del 50 % (45 mg). RMN 1H (400 MHz, CD_3OD): δ 7,51 (s, 1 H), 7,47 (s, 1 H), 7,41 (m, 3 H), 6,88 (s, 1 H), 4,63 (m, 1 H), 4,12 (d, 1 H, $J = 10$ Hz), 3,71 (d, 1 H, $J = 10$ Hz), 3,24 (m, 1 H), 2,23 (s, 3 H), 2,12 (s, 3 H), 2,02 (m, 2 H), 1,40 (d, 3 H, $J = 9$ Hz), 1,35 (d, 6 H, $J = 6$ Hz), 0,95 (t, 3 H, $J = 8$ Hz). T_r de CL-EM (tiempo de retención): 2,91 min, EM: (EN) m/z 477 ($M+H^+$).

25

30

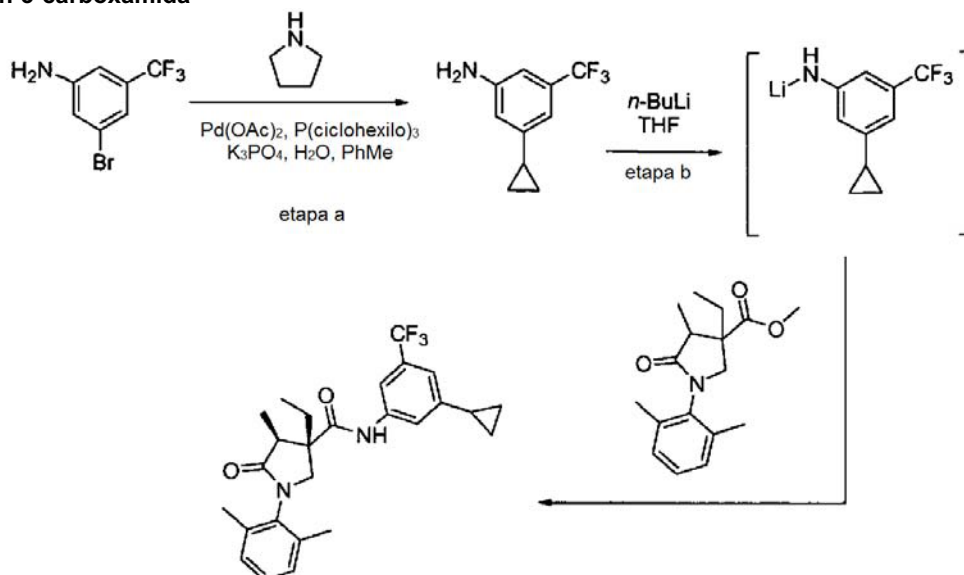
Ejemplo 25: Síntesis de *cis*-3-etil-*N*-(3-(trifluorometil)-5-(pirrolidin-1-il)fenil)-4-metil-1-(2,6-dimetilfenil)-5-oxopirrolidin-3-carboxamida



- 5 a) Se disolvió 3-amino-5-bromobenzotrifluoruro (1,0 g, 4,2 mmol) en DMSO (2 ml). Se añadió pirrolidina (1,0 ml, 13 mmol) a temperatura ambiente, seguido de K_3PO_4 (1,9 g, 8,4 mmol), CuI (80 mg, 0,42 mmol) y prolina (97 mg, 0,84 mmol). Después de agitar 16 h a 90 °C, los análisis de CL-EM y TLC indicaron la finalización de la reacción. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (50 ml) y se lavó con NH_4OH acuoso (30 %, 60 ml) y salmuera (20 ml) y la solución resultante se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (SiO_2 , EtOAc al 10-35 %/hexanos) para dar 800 mg de un polvo de color castaño (rendimiento del 83 %). T_r de CL-EM (tiempo de retención): 2,44 min, EM: (EN) m/z 231 ($M+H^+$).

- 10 b) A una solución de 3-(pirrolidin-1-il)-5-aminobenzotrifluoruro (94 mg, 0,41 mmol) disuelto en THF (1 ml) se le añadió una solución de *n*-butil litio (2,5 M en hexanos, 0,16 ml, 0,41 mmol). Después de 5 minutos, esta solución se añadió a una solución de 3-etil-4-metil-1-(2,6-dimetilfenil)-5-oxopirrolidin-3-carboxilato de metilo (preparación como se ha descrito previamente) (53 mg, 0,18 mmol) en THF (1 ml). La mezcla de reacción se calentó a 60 °C durante 2 h, tiempo después del cual se inactivó con NH_4Cl acuoso saturado, se diluyó con acetato de etilo, se lavó con NaCl acuoso saturado, se secó sobre $MgSO_4$, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó inicialmente por cromatografía ultrarrápida (SiO_2 , EtOAc al 40 %/hexanos), seguido de HPLC preparativa de fase inversa (gradiente de 15-95 % de CH_3CN/H_2O con modificador de TFA al 0,1 %) y se secó (lofilizador) para dar el diastereoisómero principal indicado con un rendimiento del 50 % (44 mg). RMN 1H (400 MHz, CD_3OD): δ 7,10 (m, 5 H), 6,52 (s, 1 H), 4,10 (d, 1 H, $J = 10$ Hz), 3,71 (d, 1 H, $J = 10$ Hz), 3,25 (c, 1 H, $J = 8$ Hz), 2,20 (s, 3 H), 2,13 (s, 3 H), 2,00 (m, 2 H), 1,38 (d, 3 H, $J = 8$ Hz), 0,96 (t, 3 H, $J = 7$ Hz). T_r de CL-EM (tiempo de retención): 3,19 min, EM: (EN) m/z 488 ($M+H^+$).

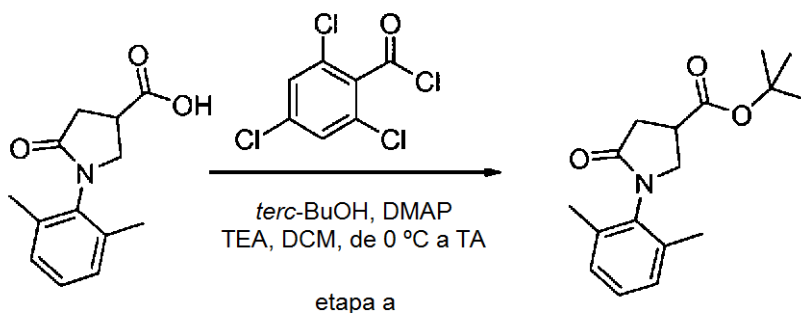
- 25 **Ejemplo 26: Síntesis de *cis*-*N*-(3-ciclopropil-5-(trifluorometil)fenil)-3-etil-4-metil-1-(2,6-dimetilfenil)-5-oxopirrolidin-3-carboxamida**



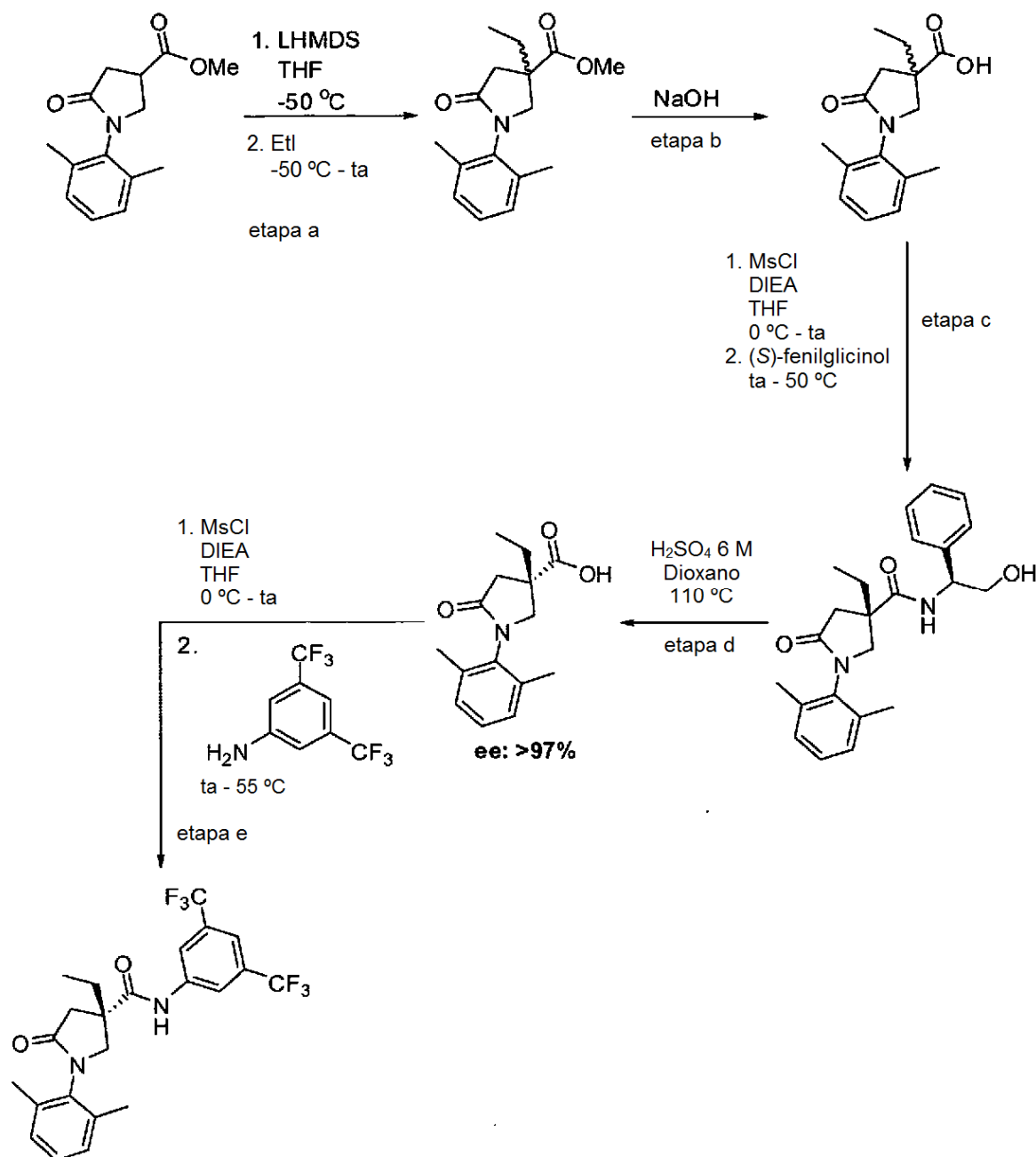
a) Un vial de 40 ml se cargó con 3-amino-5-bromobenzotrifluoruro (275 mg, 1,15 mmol), ácido ciclopropilborónico (128 mg, 1,5 mmol), Pd(OAc)₂ (13 mg, 0,06 mmol), triciclohexilfosfina (38 mg, 0,13 mmol) y K₃PO₄ (488 mg, 2,3 mmol). Posteriormente, el vial se cerró herméticamente con un tapón de rosca de tabique revestido y se purgó con nitrógeno, seguido de la adición de tolueno desgasificado (4 ml) y agua desgasificada (1 ml). Después de agitar la mezcla de reacción durante 2 h a 100 °C, la mezcla se diluyó en acetato de etilo (50 ml) y los extractos orgánicos se lavaron con salmuera, se secaron (MgSO₄) y se concentraron al vacío. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (SiO₂, EtOAc al 10-40 %/hexanos) para dar el producto deseado con un rendimiento del 55 % (126 mg). T_r CL-EM (tiempo de retención): 2,46 min, EM: (EN) *m/z* 202 (M+H⁺).

b) A una solución de 3-(ciclopropil)-5-aminobenzotrifluoruro (126 mg, 0,626 mmol) en THF (1 ml) se le añadió una solución de *n*-butil litio (2,5 M en hexanos, 0,25 ml, 0,63 mmol). Después de 5 minutos, esta solución se añadió a una solución de 3-etil-4-metil-1-(2,6-dimetilfenil)-5-oxopirrolidin-3-carboxilato de metilo (preparación como se ha descrito previamente) (74 mg, 0,27 mmol) en THF (1 ml). La mezcla de reacción se calentó a 60 °C durante 1 h, tiempo después del cual se inactivó con NH₄Cl acuoso saturado, se diluyó con acetato de etilo, se lavó con NaCl acuoso saturado, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó inicialmente por cromatografía ultrarrápida (SiO₂, EtOAc al 40 %/hexanos), seguido de HPLC preparativa de fase inversa (gradiente de 15-95 % de CH₃CN/H₂O con modificador de TFA al 0,1 %) y se secó (lofilizador) para dar el diastereoisómero principal indicado con un rendimiento del 20 % (25 mg). RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD): δ 7,74 (s, 1 H), 7,51 (s, 1 H), 7,10 (m, 4 H), 4,10 (d, 1 H, *J* = 10 Hz), 3,70 (d, 1 H, *J* = 10 Hz), 3,23 (c, 1 H, *J* = 8 Hz), 2,20 (s, 3 H), 2,11 (s, 3 H), 2,03 (m, 2H), 1,39 (d, 3 H, *J* = 8 Hz), 1,05 (m, 2 H), 0,93 (t, 3 H, *J* = 7 Hz), 0,74 (m, 2 H). T_r de CL-EM (tiempo de retención): 3,02 min, EM: (EN) *m/z* 459 (M+H⁺).

Ejemplo de Referencia 27: Síntesis de 1-(2,6-dimetilfenil)-5-oxopirrolidin-3-carboxilato de *terc*-butilo



a) En un matraz de 3 bocas y 2 l se añadieron ácido 1-(2,6-dimetilfenil)-5-oxopirrolidin-3-carboxílico (93 g, 0,40 mol), *terc*-butanol anhidro (60 ml, 0,63 mol), TEA (110 ml, 0,79 mol), DMAP (5,0 g, 41 mmol) y CH₂Cl₂ (800 ml). Después de enfriar la mezcla en un baño de hielo, en una atmósfera de nitrógeno, con agitación mecánica, se añadió en porciones cloruro de 2,4,6-triclorobenzoylo (108 g, 0,443 mol) en el transcurso de 15 minutos, de manera que la temperatura no excedió 10 °C. Después de que se completara la adición, el baño de hielo se retiró, la mezcla se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 14 h más. Los análisis de TLC y CLEM indicaron la consumición completa del material de partida y la formación del producto deseado. La mezcla se filtró y la torta de filtro se lavó con EtOAc (100 ml) y éter (150 ml). El filtrado se lavó con dos porciones de 200 ml de NaHSO₄ 1 M, cuatro porciones de 200 ml de NaHCO₃ acuoso saturado, y salmuera (100 ml). Después de secar sobre MgSO₄, la fase orgánica se trató con 24 g de gel de sílice y se filtró. El filtrado se concentró a 250 ml y se diluyó con hexano. Comenzó a formarse un precipitado cristalino, y se recuperó un cultivo inicial de 66 g. El filtrado se recuperó y se recrystalizó (éter/hexanos) para proporcionar un segundo cultivo (27 g); rendimiento total, 93 g (81 %). T_r de CL-EM (tiempo de retención): 2,28 min, EM: (EN) *m/z* 290 (M+H⁺).

Ejemplo 28: Síntesis de (S)-N-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1-(2,6-dimetilfenil)-3-etil-5-oxopirrolidin-3-carboxamida

5

a) A una solución de 1-(2,6-dimetilfenil)-5-oxopirrolidin-3-carboxilato de metilo (21,8 g, 88,2 mmol) en 250 ml de THF anhidro a -50 °C se le añadió gota a gota LHMDS (91 ml, 1,0 M) mediante un embudo de adición. La solución homogénea se agitó durante 30 min, seguido de la adición de yoduro de etilo (10 ml, 125 mmol). Posteriormente, se retiró el baño de refrigeración y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2,5 h. La solución resultante se inactivó con 100 ml cloruro de amonio saturado, se repartió con acetato de etilo y se extrajo con EtOAc. Posteriormente, los extractos orgánicos combinados se lavaron con NaHSO₃ saturado, se lavaron con salmuera y se secaron con sulfato sódico. El producto en bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (MTBE/hexanos) para proporcionar el producto alquilado (14,5 g) con un rendimiento del 60 %. T_r de CL-EM (tiempo de retención): 2,17 min; EM: (EN) m/z 276 (M+H⁺).

15

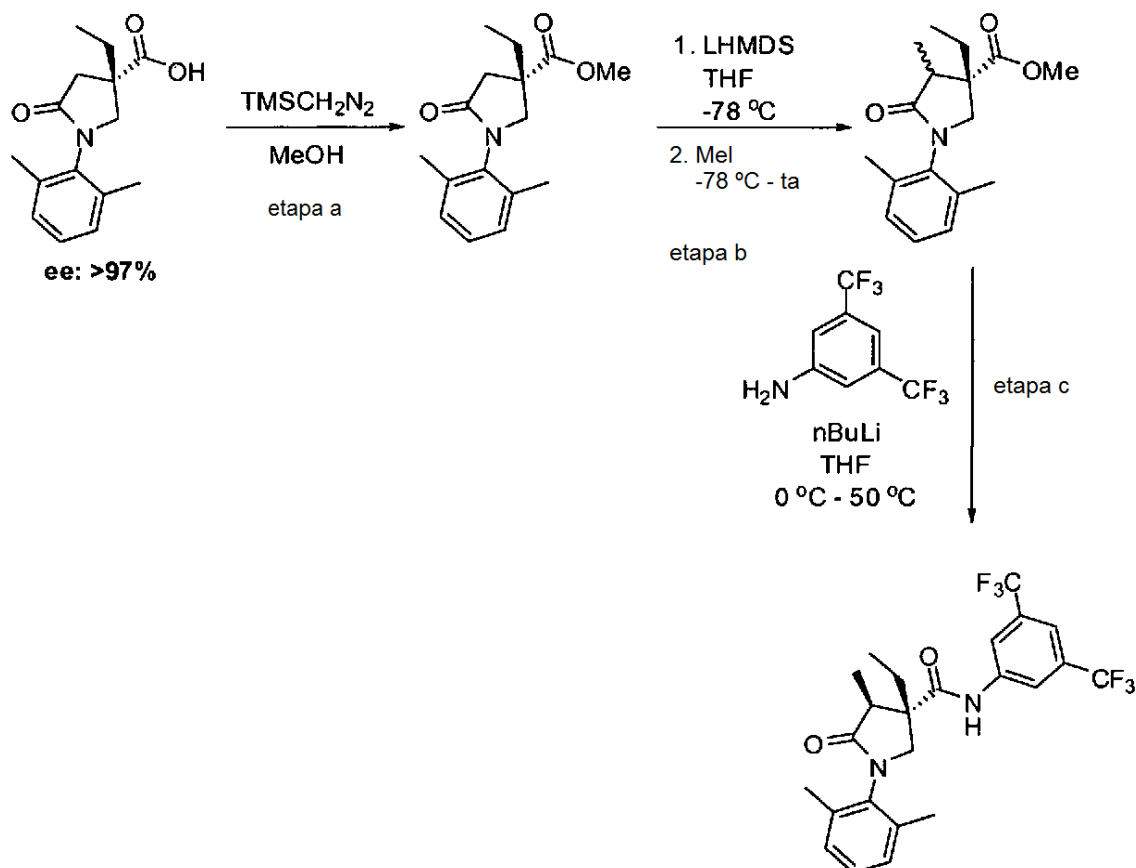
b) Un matraz de 500 ml se cargó con el éster de la etapa a (1,4 g, 4,9 mmol), NaOH (40 ml, 1,0 M) y EtOH (20 ml). La mezcla resultante se agitó durante 105 min y después se añadió lentamente HCl 6 M para precipitar el ácido deseado. El precipitado se lavó vigorosamente con HCl al 10 % y se secó a presión reducida para generar el ácido deseado con rendimiento cuantitativo (1,3 g). T_r de CL-EM (tiempo de retención): 1,42 min; EM: (EN) m/z 262 (M+H⁺).

c) A una solución de ácido 1-(2,6-dimetilfenil)-3-etil-5-oxopirrolidin-3-carboxílico (500 mg, 1,91 mmol), cloruro de metanosulfonilo (0,233 ml, 2,86 mmol) y THF (4 ml) a 0 °C se le añadió diisopropiletilamina (1,0 ml, 5,73 mmol). La solución se agitó 15 min a 0 °C, se calentó a temperatura ambiente y después se agitó durante 20 min más. Posteriormente, se añadió (S)-fenilglicinol (523 mg, 3,82 mmol) y la solución se calentó a 55 °C durante una noche. Al día siguiente, la mezcla de reacción se inactivó con HCl al 10 % y la fase acuosa se extrajo tres veces con EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con bicarbonato sódico, se secaron con sulfato sódico, se concentraron al vacío y se purificaron por HPLC preparativa para proporcionar las dos amidas diastereoméricas (diastereómero de elusión más rápida: 128 mg, rendimiento del 18 %; diastereómero de elusión más lenta: 132 mg, rendimiento del 18 %), el primero de los mismos era el diastereómero deseado. 1^{er} diastereómero: T_r de CL-EM (tiempo de retención): 1,81 min; EM: (EN) *m/z* 381 (M+H⁺). 2^o diastereómero: T_r de CL-EM (tiempo de retención): 1,94 min; EM: (EN) *m/z* 381 (M+H⁺).

d) Un vial de centelleo de 25 ml se cargó con la amida de la etapa c (140 mg, 0,367 mmol), ácido sulfúrico concentrado (1,4 ml) y dioxano (1,4 ml). La solución se cerró herméticamente y se calentó a 110 °C durante una noche. Al día siguiente, la reacción se repartió con éter dietílico y salmuera, la fase acuosa se extrajo tres veces con éter dietílico y los extractos orgánicos combinados se secaron sobre sulfato sódico para proporcionar el ácido deseado (83 mg) con un rendimiento del 86 %. Se determinó que la pureza enantiomérica era >97 % mediante HPLC quiral (Regis Whelk, 88 % de hexanos:12 % de EtOH con 0,1 % de AcOH, caudal 1 ml/min, T_r (tiempo de retención): 19,8 min). T_r de CL-EM (tiempo de retención): 1,39 min; EM: (EN) *m/z* 262 (M+H⁺).

e) A una solución del ácido en bruto de la etapa d (10 mg, 0,038 mmol) y cloruro de metanosulfonilo (6 µl, 0,076 mmol) en THF (0,38 ml) a 0 °C se le añadió diisopropiletilamina (0,027 ml, 0,15 mmol). La solución se agitó durante 15 min a 0 °C, se calentó a temperatura ambiente, posteriormente se añadió 3,5-bis(trifluorometil)bencenamina (0,018 ml, 0,12 mmol) y la solución se calentó a 55 °C durante una noche. Al día siguiente, la mezcla de reacción se purificó mediante HPLC preparativa para proporcionar la amida deseada en forma de un sólido de color blanco. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 8,06 (s, 2 H), 7,67 (s, 1 H), 7,64 (s, 1 H), 7,04-7,17 (m, 3 H), 4,16 (d, *J* = 10,4 Hz, 1 H), 3,50 (d, *J* = 10,4 Hz, 1 H), 3,14 (d, *J* = 16,8 Hz, 1 H), 2,67 (d, *J* = 16,8 Hz, 1 H), 2,24 (s, 3 H), 2,17 (s, 3 H), 1,95-2,14 (m, 2 H), 1,06 (t, *J* = 7,2 Hz, 3 H). T_r de CL-EM (tiempo de retención): 3,00 min; EM: (EN) *m/z* 473 (M+H⁺).

Ejemplo 29: Síntesis de (3S,4S)-N-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1-(2,6-dimetilfenil)-3-etil-4-metil-5-oxopirrolidin-3-carboxamida

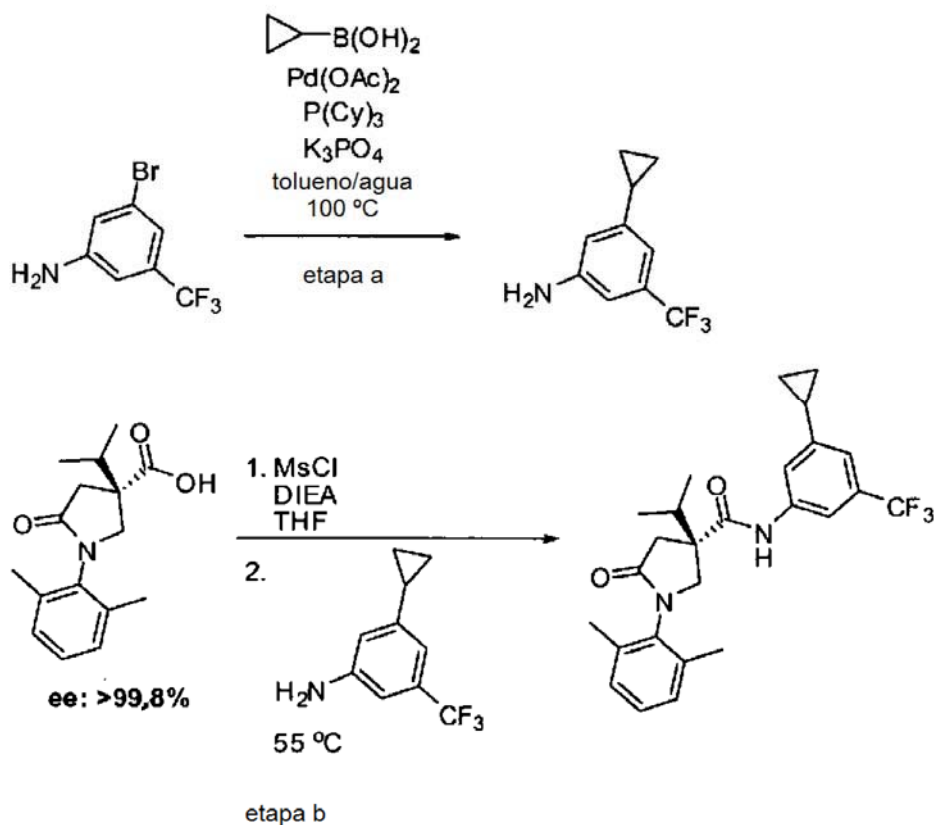


a) A una solución de ácido (S)-1-(2,6-dimetilfenil)-3-etil-5-oxopirrolidin-3-carboxílico (79 mg, 0,30 mmol) en MeOH (4,0 ml) se le añadió trimetilsilildiazometano (2,0 M) hasta que el color amarillo del reactivo persistió. La solución homogénea se agitó durante 30 min más, seguido de la adición de ácido acético para inactivar el reactivo en exceso. Posteriormente, la mezcla en bruto se repartió con EtOAc/bicarbonato sódico saturado y la fase acuosa se extrajo dos veces con EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre sulfato sódico y se concentraron al vacío para proporcionar el éster metílico deseado (82 mg, rendimiento cuantitativo) que se utilizó directamente en la siguiente etapa. T_r de CL-EM (tiempo de retención): 2,15 min; EM: (EN) m/z 276 ($M+H^+$).

b) A una solución de 1-(2,6-dimetilfenil)-3-etil-5-oxopirrolidin-3-carboxilato de (S)-metilo en bruto (82 mg, 0,30 mmol) en 3 ml de THF anhidro a -78°C se le añadió LHMDs (0,31 ml, 1,0 M). La solución homogénea se agitó durante 30 min, seguido de la adición de yoduro de metilo (0,037 ml, 0,59 mmol). La reacción se dejó calentar lentamente a temperatura ambiente (según se calentaba la acetona/hielo seco) y se agitó durante una noche. Al día siguiente, la solución se inactivó con HCl al 10 %, se repartió con acetato de etilo y la fase orgánica se separó. Posteriormente, los extractos orgánicos se lavaron con HCl al 10 %, se lavaron con salmuera, se secaron con sulfato sódico y se concentraron al vacío para generar 83 mg (rendimiento cuantitativo) de la pirrolidinona metilada en forma de una mezcla de diastereómeros que se utilizaron directamente en la siguiente etapa. T_r de CL-EM (tiempo de retención): 2,33 min; EM: (EN) m/z 290 ($M+H^+$).

c) A una solución de 3,5-bis(trifluorometil)bencenamina (500 mg, 2,18 mmol) en THF (3,6 ml) a 0°C se le añadió nBuLi (0,83 ml, 2,5 M). La solución se agitó durante 20 min para permitir la formación de anión. En un matraz separado, el éster en bruto de la etapa b (83 mg, 0,30 mmol) se disolvió en THF (0,8 ml) y la solución se enfrió a 0°C . Posteriormente, se añadió el anión de litio de 3,5-bis(trifluorometil)bencenamina (1,62 ml, 0,46 M) al éster en bruto y el matraz se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante una noche. Al día siguiente, la reacción en bruto se purificó por HPLC preparativa, que falló al proporcionar el producto deseado con pureza suficiente. Posteriormente, las fracciones más puras se purificaron por cromatografía sobre gel de sílice (EtOAc/hexanos) para proporcionar el producto deseado en forma de un sólido de color blanco. RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 8,04 (s, 2 H), 7,64 (s, 1 H), 7,56 (s, 1 H), 7,04-7,16 (m, 3 H), 4,20 (d, $J = 10,3$ Hz, 1 H), 3,46 (d, $J = 10,3$ Hz, 1 H), 3,06 (c, $J = 7,0$ Hz, 1 H), 2,22 (s, 3 H), 2,17 (s, 3 H), 1,94 (c, $J = 7,2$ Hz, 2 H), 1,46 (d, $J = 7,2$ Hz, 3 H), 1,05 (t, $J = 7,2$ Hz, 3 H). T_r de CL-EM (tiempo de retención): 3,01 min; EM: (EN) m/z 487 ($M+H^+$).

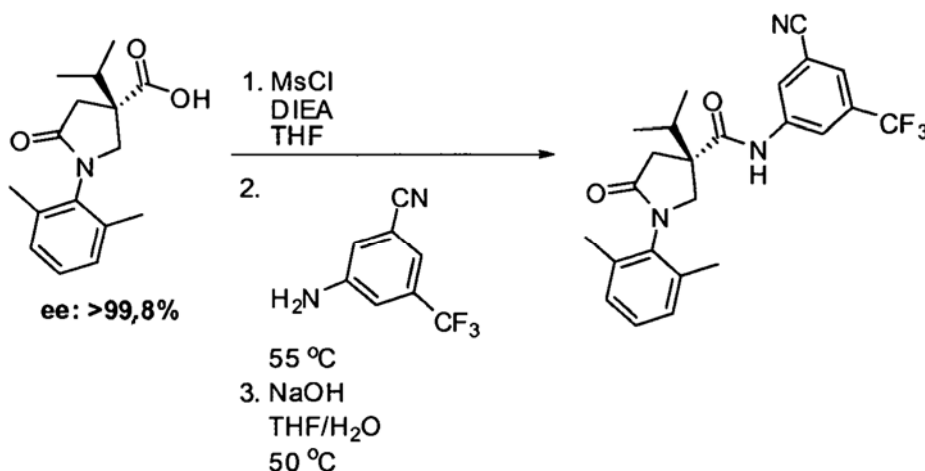
Ejemplo 30: Síntesis de (R)-N-(3-ciclopropil-5-(trifluorometil)fenil)-1-(2,6-dimetilfenil)-3-isopropil-5-oxopirrolidin-3-carboxamida



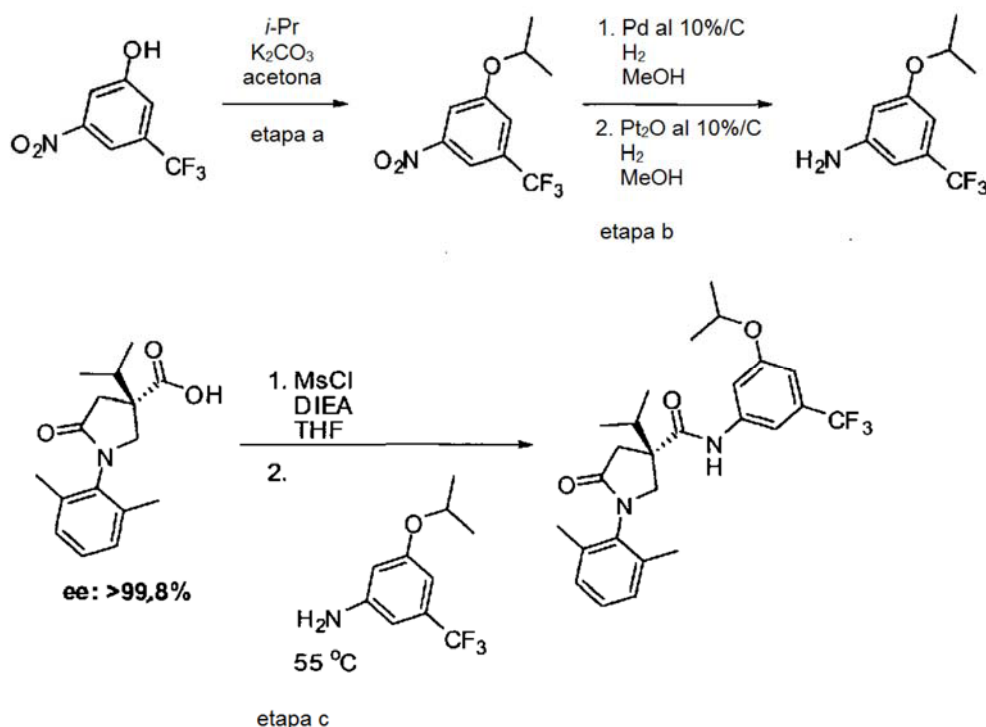
a) Un vial de 40 ml se cargó con 3-amino-5-bromobenzotrifluoruro (275 mg, 1,15 mmol), ácido ciclopropilborónico (128 mg, 1,5 mmol), Pd(OAc)₂ (13 mg, 0,06 mmol), triciclohexilfosfina (38 mg, 0,13 mmol) y K₃PO₄ (488 mg, 2,3 mmol). Posteriormente, el vial se cerró herméticamente con un tapón de rosca de tabique revestido y se purgó con nitrógeno, seguido de la adición de tolueno desgasificado (4 ml) y agua desgasificada (1 ml). Después de agitar la mezcla de reacción durante 2 h a 100 °C, la mezcla se diluyó en acetato de etilo (50 ml) y los extractos orgánicos se lavaron con salmuera, se secaron (MgSO₄), y se concentraron al vacío. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (SiO₂, EtOAc al 10-40 %/hexanos) para dar el producto deseado con un rendimiento del 55 % (126 mg). T_r de CL-EM (tiempo de retención): 2,46 min, EM: (EN) *m/z* 202 (M+H⁺).

b) A una solución de ácido (R)-1-(2,6-dimetilfenil)-3-isopropil-5-oxopirrolidin-3-carboxílico (32 mg, 0,12 mmol) y cloruro de metanosulfonilo (12 µl, 0,15 mmol) en THF (0,6 ml) a 0 °C se le añadió diisopropiletilamina (0,060 ml, 0,35 mmol). La solución se agitó 15 min a 0 °C, se calentó a temperatura ambiente, posteriormente se añadió 3-ciclopropil-5-(trifluorometil)bencenammina (47 mg, 0,23 mmol) y la solución se calentó a 55 °C durante una noche. Al día siguiente, la mezcla de reacción se purificó mediante HPLC preparativa para proporcionar la amida deseada en forma de un sólido de color blanco. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 9,89 (s, 1 H), 7,86 (s, 1 H), 7,56 (s, 1 H), 7,05-7,17 (m, 4 H), 3,97 (d, *J* = 10,4 Hz, 1 H), 3,67 (d, *J* = 10,4 Hz, 1 H), 3,04 (d, *J* = 17,2 Hz, 1 H), 2,65 (d, *J* = 17,2 Hz, 1 H), 2,36 (septuplete, *J* = 6,8 Hz, 1 H), 2,16 (s, 3 H), 1,99-2,08 (m, 1 H), 1,99 (s, 3 H), 1,00-1,06 (m, 2 H), 0,96 (t, *J* = 6,8 Hz, 6 H), 0,70-0,75 (m, 2 H). T_r de CL-EM (tiempo de retención): 3,02 min; EM: (EN) *m/z* 459 (M+H⁺).

Ejemplo 31: Síntesis de (R)-N-(3-ciano-5-(trifluorometil)fenil)-1-(2,6-dimetilfenil)-3-isopropil-5-oxopirrolidin-3-carboxamida



A una solución de ácido (R)-1-(2,6-dimetilfenil)-3-isopropil-5-oxopirrolidin-3-carboxílico (25 mg, 0,091 mmol) y cloruro de metanosulfonilo (9 µl, 0,12 mmol) en THF (0,9 ml) a 0 °C se le añadió diisopropiletilamina (0,047 ml, 0,27 mmol). La solución se agitó 15 min a 0 °C, se calentó a temperatura ambiente, posteriormente se añadió 3-amino-5-(trifluorometil)benzonitrilo (34 mg, 0,18 mmol) y la solución se calentó a 55 °C durante una noche. Al día siguiente, la mezcla de reacción se purificó mediante HPLC preparativa, que falló al proporcionar el producto deseado con pureza suficiente. A una solución de la mezcla en bruto (14 mg) en 2 ml de THF se le añadió NaOH acuoso (3 ml, 1,0 M) y la solución se agitó a 50 °C durante una noche. Al día siguiente, la solución se inactivó con HCl al 10 %, se repartió con acetato de etilo y la fase orgánica se separó. Posteriormente, los extractos orgánicos se secaron con sulfato sódico, se concentraron al vacío y se purificaron mediante HPLC preparativa para proporcionar la amida deseada en forma de un sólido de color blanco. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 10,28 (s, 1 H), 8,39 (s, 1 H), 8,30 (s, 1 H), 8,05 (s, 1 H), 7,04-7,17 (m, 3 H), 3,99 (d, *J* = 11,2 Hz, 1 H), 3,67 (d, *J* = 10,8 Hz, 1 H), 3,05 (d, *J* = 17,2 Hz, 1 H), 2,70 (d, *J* = 17,2 Hz, 1 H), 2,38 (septuplete, *J* = 6,8 Hz, 1 H), 2,17 (s, 3 H), 2,00 (s, 3 H), 0,98 (t, *J* = 6,8 Hz, 6 H). T_r de CL-EM (tiempo de retención): 2,81 min; EM: (EN) *m/z* 444 (M+H⁺).

Ejemplo 32: Síntesis de (R)-1-(2,6-dimetilfenil)-N-(3-isopropoxi-5-(trifluorometil)fenil)-3-isopropil-5-oxopirrolidin-3-carboxamida

a) A una solución de 3-nitro-5-(trifluorometil)fenol (6,0 g, 29,0 mmol) en acetona (60 ml) se le añadió carbonato potásico (12,0 g, 87,0 mmol) y yoduro de isopropilo (4,35 ml, 43,5 mmol). Después, la mezcla heterogénea se agitó durante una noche a temperatura ambiente. Al día siguiente, la mezcla de reacción se repartió con éter dietílico/agua y la fase acuosa se extrajo dos veces con éter dietílico. Los extractos orgánicos combinados se secaron con sulfato sódico, se concentraron al vacío y el producto en bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida (SiO_2 , EtOAc al 25 %/hexanos) para proporcionar el éter deseado en forma de un aceite de color amarillo. T_r de CL-EM (tiempo de retención): 2,98 min.

b) Un matraz de agitación Parr se cargó con el éter de la etapa a (~29,0 mmol), Pd al 10 %/C (1,0 g, 0,94 mmol) y MeOH (50 ml). La solución heterogénea se hidrogenó usando un agitador Parr a 0,28 MPa (40 psi) durante una noche. La mezcla de reacción se filtró a través de Celite y la torta se aclaró con MeOH. El filtrado se concentró y el residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (SiO_2 , EtOAc al 25 %/hexanos) para proporcionar una mezcla de la anilina deseada y un compuesto nitroso parcialmente reducido. A una solución del intermedio nitroso (~6 g) en metanol (15 ml) se le añadió óxido de platino al 10 % (1,0 g, 0,44 mmol) y la solución se hidrogenó usando aun agitador Parr a 0,28 MPa (40 psi) durante una noche. La mezcla de reacción se filtró a través de Celite y la torta se aclaró con metanol. El filtrado se concentró y el residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (SiO_2 , EtOAc al 25 %/hexanos) para proporcionar la anilina deseada (4,5 g, rendimiento de dos etapas del 71 %). T_r de CL-EM (tiempo de retención): 2,47 min; EM: (EN) m/z 220 ($M+H^+$).

c) A una solución de ácido (R)-1-(2,6-dimetilfenil)-3-isopropil-5-oxopirrolidin-3-carboxílico (25 mg, 0,091 mmol) y cloruro de metanosulfonilo (9 μl , 0,12 mmol) en THF (0,9 ml) a 0 °C se le añadió diisopropiletilamina (0,047 ml, 0,27 mmol). La solución se agitó durante 15 min a 0 °C, se calentó a temperatura ambiente y posteriormente se añadió 3-isopropoxi-5-(trifluorometil)bencenamina (39 mg, 0,18 mmol) y la solución se calentó a 55 °C durante una noche. Al día siguiente, la mezcla de reacción se purificó mediante HPLC preparativa para proporcionar la amida deseada en forma de un sólido de color blanco. RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 9,91 (s, 1 H), 7,59 (s, 1 H), 7,56 (s, 1 H), 7,04-7,16 (m, 3 H), 6,90-6,94 (m, 1 H), 4,65 (septuplete, $J = 6,0$ Hz, 1 H), 3,97 (d, $J = 10,4$ Hz, 1 H), 3,66 (d, $J = 10,8$ Hz, 1 H), 3,04 (d, $J = 17,2$ Hz, 1 H), 2,66 (d, $J = 17,2$ Hz, 1 H), 2,36 (septuplete, $J = 6,8$ Hz, 1 H), 2,16 (s, 3 H), 2,00 (s, 3 H), 1,29 (d, $J = 6,0$ Hz, 6 H), 0,96 (t, $J = 6,4$ Hz, 6 H). T_r de CL-EM (tiempo de retención): 3,08 min; EM: (EN) m/z 477 ($M+H^+$).

Ejemplo biológico 1

Para demostrar que los compuestos descritos anteriormente son moduladores útiles para la unión de quimiocinas a ChemR23, se exploraron los compuestos *in vitro* para determinar su capacidad para desplazar a quemerina del receptor ChemR23 a múltiples concentraciones. Los compuestos se combinaron con células que expresaban el receptor ChemR23 (por ejemplo, células dendríticas humanas primarias o células transfectadas para expresar

ChemR23) en presencia de quemerina marcada con ^{125}I tal como se detalla en *Determinación de los valores de CI_{50} , Reactivos y células* (ver más adelante). La capacidad de los compuestos para desplazar a la quemerina marcada de los sitios del receptor ChemR23 a múltiples concentraciones se determinó con el proceso de exploración.

Los compuestos que se consideraron moduladores eficaces fueron capaces de desplazar al menos el 50 % de la quemerina del receptor ChemR23 a concentraciones de o por debajo 6 micromolar (μM) pero $> 300 \text{ nM}$ (+); y más preferentemente a concentraciones de $> 30 \text{ nM}$ a $\leq 300 \text{ nM}$ (++) . De hecho, los compuestos especialmente preferidos pueden desplazar al menos el 50 % de la quemerina del receptor ChemR23 a concentraciones de o por debajo 30 nM (+++). Los compuestos ilustrativos que cumplen estos criterios se reproducen en la **Figura 1**. Todos los compuestos se prepararon tal como se describe en los Ejemplos anteriores, o mediante métodos relacionados sustituyendo materiales de partida fácilmente disponibles.

1. Determinación de valores de CI_{50} .

Reactivos y células. La quemerina marcada con ^{125}I se produjo por encargo por Perkin-Elmer Life Sciences, Inc. (Boston, MA). La línea celular BaF3 (pro-linfocito B murino) se obtuvo de la American Type Culture Collection (ATCC, Manassas, VA) y se cultivó en DMEM (Mediatech, Herndon, VA) suplementado con suero fetal bovino (FBS) al 10 % (HyClone Logan, UT) a 37°C en un incubador humidificado con una mezcla de CO_2 al 5 %/aire. Las células BaF3 transfectadas con ChemR23 se produjeron tal como se describe más adelante. La secuencia codificante completa del gen que codifica a ChemR23 (también conocido como CMKLR1, DEZ), se aisló de macrófagos primarios usando el kit de aislamiento de ARNm μMACs (Miltényi Biotech, Auburn, CA). La contaminación por ADN se eliminó por digestión de DNasa a través de columnas RNeasy (Qiagen, Inc., Valencia, CA) y se generó ADNc usando el kit GeneAmp RNA PCR Core (Applied Biosystems, Foster City, CA). La PCR de muestras de ADNc se llevó a cabo usando el kit Taq PCR Master Mix (Qiagen, Inc.). El marco de lectura abierto se clonó en un pcDNA3.1 (Invitrogen, CA) (usando técnicas estándar (Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Sambrook y Maniatis) y se transfectó a células BaF3. Las células transfectadas se seleccionaron usando G418 a $800 \mu\text{g/ml}$ y los clones óptimos se aislaron mediante clasificación de células marcadas con anticuerpos activados por fluorescencia (R&D systems).

Análisis de unión. Los compuestos diana se ensayaron para determinar su capacidad para unirse a sitios de ChemR23 en células BaF3 transfectadas con ChemR23. Se usó la unión de radioligandos maximizada por eficiencia usando protocolos de filtración tal como se describe en Dairaghi DJ, et al., HHV8-encoded vMIP-I selectively engages chemokine receptor CCR5. Agonist and antagonist profiles of viral chemokines., J. Biol. Chem. 30 de julio de 1990; 274(31): 21569-74 y Gosling J, et al., Cutting edge: identification of a novel chemokine receptor that binds dendritic cell- and T cell-active chemokines including ELC, SLC, and TECK., J. Immunol. 15 de marzo de 2000; 164(6):2851-6.

En estos ensayos, las células BaF3 transfectadas con ChemR23 se interrogaron con los compuestos diana y se determinó la capacidad de estos compuestos para desplazar a quemerina marcada con ^{125}I usando el protocolo descrito en Dairaghi y Gosling. Los compuestos diana se añadieron a la placa a la concentración indicada y a continuación se incubaron con las células seguido de la adición de ligando radiomarcado (^{125}I -quemerina) durante 3 horas a 4°C en el siguiente medio de unión (HEPES 25 mM, NaCl 140 mM, CaCl_2 1 mM, MgCl_2 5 mM y albúmina de suero bovino al 0,2 %, ajustado a pH 7,1). Todos los ensayos se incubaron a continuación durante 3 horas a 4°C con agitación suave. Después de incubación en todos los ensayos de unión, se aspiraron las reacciones sobre filtros de vidrio GF/B tratados con PEI (Packard) usando un recogedor de células (Packard) y se lavaron dos veces (HEPES 25 mM, NaCl 500 mM, CaCl_2 1 mM, MgCl_2 5 mM, ajustado a pH 7,1). Se añadió centelleante (MicroScint 10, Packard) a los pocillos, y se contaron los filtros en un contador de centelleo Packard Topcount. Los datos se analizaron y representaron usando GraphPad Prism (GraphPad Software).

Ensayo de migración transendotelial: Los compuestos de la invención se evaluaron adicionalmente para su capacidad de inhibir la migración de células en un ensayo de migración transendotelial. En este ensayo, se analiza la capacidad de una célula para migrar a través de una capa de células endoteliales hacia una fuente de quimiocina. En un ejemplo de este ensayo se plantaron 100.000 células endoteliales de la vena umbilical (HIVEC, disponibles a través de Lonza) en la cámara superior de una placa de cultivo transpocillo con un tamaño de poro de $5 \mu\text{M}$ (Corning Costar). Se añadió medio y las placas se colocaron en un incubador durante toda la noche con CO_2 al 5 % 37°C . Después de que las células HUVEC se adhiresen al filtro durante toda la noche formando una monocapa, el medio que contenía a la quimiocina (por ejemplo, quemerina, concentración final 10 nM) se añadió a la cámara inferior. Después se añadieron 500.000 células dendríticas plasmacitoides humanas primarias (pDC) aisladas de sangre completa o células dendríticas derivadas de monocitos primarios (diferenciadas a partir de PBMC humanas primarias) a la cámara superior en presencia o ausencia del compuesto de ensayo, y se devolvieron las placas al incubador durante 3 horas o toda la noche. Se añadieron varias concentraciones de compuesto a diferentes pocillos para crear una respuesta a dosis. Al final de esta incubación la placa superior se retiró y se cuantificaron las células en la cámara inferior. Las células se cuantificaron marcándolas con el tinte fluorescente Cyquant® (Invitrogen, CA) y la fluorescencia se cuantificó en un lector de placas adecuado. Los datos se analizaron y representaron usando GraphPad Prism (GraphPad Software). La eficacia del compuesto se mide como su capacidad para inhibir la migración de estas células a la cámara inferior.

Migración a sobrenadantes derivados de monocitos: Los compuestos seleccionados de la invención se evaluaron adicionalmente para su capacidad de inhibir la migración de células a sobrenadantes que contenían quemerina activa, derivados de adipocitos humanos maduros. En este ensayo se cultivaron preadipocitos (Zenbio, NC) en medio de diferenciación de adipocitos (Zenbio, N° de Catálogo DM-2) y se incubaron durante 7 días a 37 °C y CO₂ al 5 %. Después de 7 días, se sustituyó el medio de diferenciación con medio Adipocyte Medium fresco (Zenbio, N° de Catálogo AM-1). Después de dos semanas de diferenciación, se estimuló a los adipocitos maduros con 10ng/ml de TNF- α durante 72 horas. Se recogió entonces el sobrenadante y se añadió a la cámara inferior de placas de 96 pocillos para migración (Neuroprobe, MD), y se añadieron 100.000 células BaF3 transfectadas con ChemR23 a la cámara superior. Las placas se incubaron durante 2 horas a 37 °C. Se añadieron varias concentraciones de compuesto a diferentes pocillos para crear una respuesta a dosis. Al final de esta incubación la placa superior se retiró y se cuantificaron las células en la cámara inferior. Las células se cuantificaron marcándolas con el tinte fluorescente Cyquant® (Invitrogen, CA) y la fluorescencia se cuantificó en un lector de placas adecuado. Los datos se analizaron y representaron usando GraphPad Prism (GraphPad Software). La eficacia del compuesto se mide como su capacidad para inhibir la migración de estas células a la cámara inferior.

Eficacia *in vivo*

a) Modelo de roedor de encefalomiелitis autoinmune experimental

Puede llevarse a cabo un estudio experimental de encefalomiелitis autoinmune (EAE) para evaluar los efectos de un compuesto de interés sobre la parálisis inducida por EAE. La EAE de roedor es un modelo experimental de esclerosis múltiple (EM) que se ha usado ampliamente para ensayos preclínicos de numerosos agentes para el tratamiento de EM remitente, recurrente y progresiva. Las señas de identidad de este modelo son la aparición y progresión fiable de parálisis robusta y fácilmente medible de la cola y extremidades, inflamación neuronal, y desmielinización marcada en respuesta a antígenos neuronales.

Los roedores hembra son anestesiados con usoflurano y se les inyecta adyuvante incompleto de Freund que contiene 1 mg/ml de antígeno neuronal (por ejemplo, proteína básica de mielina, glucoproteína de oligodendrocito de mielina, proteína de proteolípido) y 4 mg/ml de *Mycobacterium tuberculosis* en dos sitios en el lomo en el día 0 de este estudio. Se dosifica diariamente un compuesto de interés por vía subcutánea, intraperitoneal u oral desde el día 0 hasta el final del estudio a una dosis eficaz. Las observaciones diarias del grado de parálisis se toman como medidas de eficacia.

(b) Evaluación de un compuesto de interés en un modelo de ratón de resistencia a la insulina por obesidad inducida por la dieta.

En los estudios de resistencia a la insulina, se usan ratones macho derivados de C57 B1/6 (24 $\pm$ 2 g). Se somete a los ratones a una dieta rica en grasa (60 % de las kcal procedentes de grasas) o dieta de control (10 % de las kcal procedentes de grasas) durante un periodo de 12-24 semanas. Después de 12-24 semanas se miden los niveles de glucosa en sangre en ayunas para determinar el grado de resistencia a la insulina. Después se asignan los animales al azar a grupos de tratamiento. Se administra un compuesto de ensayo o vehículo diariamente a través de una vía subcutánea, intraperitoneal u oral a una dosis eficaz hasta el final del estudio. Las medidas tomadas incluyen glucosa en sangre en ayuno, insulina en ayuno, ácidos grasos libres, colesterol total, respuesta a provocación con glucosa sistémica, respuesta a provocación con insulina sistémica. Puede aplicarse una prueba de t de Student desapareada para la comparación entre los grupos de tratamiento y vehículo en cada punto temporal de medida. Las diferencias se consideran estadísticamente significativas a un nivel de P < 0,05.

(c) Evaluación de un compuesto de interés en un modelo animal de inflamación dérmica.

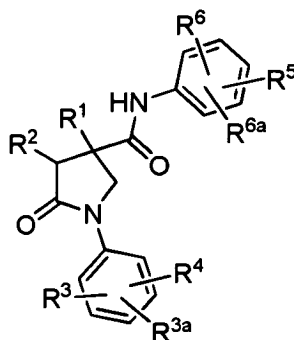
En los estudios de inflamación dérmica pueden usarse varias especies, tales como, pero sin limitación, primate no humano, ratón, rata, conejo, etc. Se inyectan o aplican tópicamente sobre la piel irritantes dérmicos. Se miden las reacciones de pápulas y eritemas así como biopsias por punción tomadas de las áreas afectadas. Se usa inmunohistoquímica e inmunofluorescencia para definir los grados de inflamación. Se administra un compuesto de ensayo o vehículo diariamente a través de una vía subcutánea, intraperitoneal, u oral a una dosis eficaz hasta el final del estudio. Puede aplicarse una prueba de t de Student desapareada para la comparación entre los grupos de tratamiento y vehículo en cada punto temporal de medida. Las diferencias se consideran estadísticamente significativas a un nivel de P < 0,05.

(d) Resultados de la evaluación de la inflamación dérmica en animales.

Se evaluaron los compuestos de la invención en el modelo de imiquimod murino de inflamación dérmica. En resumen, se trataron ratones BALB/c hembra de 8-10 semanas de edad por vía tópica desde el día 0 con crema de imiquimod al 5 % aplicada sobre el lomo afeitado y las orejas. También desde el día 0, se trató a los ratones por vía oral a diario con 3 mg/kg de compuesto o la solución aceite de maíz:vehículo (70:30). Se determinó el grosor de la piel desde el día tres hasta el diez usando medidas de calibre. En los animales tratados con compuesto se redujo la inflamación de la oreja y el grosor de la piel de manera considerable en comparación con los controles tratados con vehículo, lo que indica una reducción de la inflamación por imiquimod mediada por el compuesto.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que tiene la fórmula:



(I)

5 o un estereoisómero, rotámero o una variante enriquecida isotópicamente del mismo, en la que

R^1 es un miembro seleccionado entre el grupo que consiste en hidroxilo, alquilo C_{1-8} , alquenilo C_{2-8} , alcoxi C_{1-8} ,
 10 alcoxi C_{1-8} -alquilo C_{1-8} , haloalquilo C_{1-8} , hidroxialquilo C_{1-8} , cicloalquilo C_{3-8} , cicloheteroalquilo C_{3-8} , cicloalquil
 C_{3-8} -alquilo C_{1-3} , cicloheteroalquil C_{3-8} -alquilo C_{1-3} , heteroarilo, heteroaril-alquilo C_{1-4} , ariloxialquilo C_{1-4} , aril-alcoxi
 C_{1-2} -alquilo C_{1-4} , $-NR^aR^b$, y R^aR^bN -alquilo C_{1-4} donde cada uno de R^a y R^b se selecciona independientemente entre
 el grupo que consiste en H, alquilo C_{1-8} , cicloalquilo C_{3-8} , haloalquilo C_{1-8} , cicloheteroalquilo C_{3-8} , alcoxi C_{1-8} -alquilo
 C_{1-8} , mono- o di-(alquil C_{1-4})amino-alquilo C_{1-4} e hidroxialquilo C_{1-8} , o R^a y R^b se combinan con el nitrógeno al que
 15 cada uno está unido para formar un anillo de 4 a 7 miembros que tiene opcionalmente un O o N adicional como un
 miembro del anillo y está opcionalmente sustituido con 1 a 4 sustituyentes seleccionados entre el grupo que
 consiste en hidroxilo, halógeno, alquilo C_{1-4} y haloalquilo C_{1-4} ;

R^2 es un miembro seleccionado entre el grupo que consiste en H, alquilo C_{1-8} , alquenilo C_{2-8} ;

u opcionalmente, R^1 y R^2 se combinan para formar un anillo de cuatro a seis miembros condensado al anillo
 20 pirrolidinona y que tiene al menos un heteroátomo de vértice de anillo seleccionado entre el grupo que consiste en
 O, S y N;

R^3 y R^{3a} son cada uno miembros seleccionados entre el grupo que consiste en H, halógeno, alquilo C_{1-4} , alquenilo
 C_{2-6} , cicloalquilo C_{3-6} , cicloheteroalquilo C_{3-8} , cicloalquil C_{3-8} -alquilo C_{1-3} y cicloheteroalquil C_{3-8} -alquilo C_{1-3} ;

R^4 es un miembro seleccionado entre el grupo que consiste en H, halógeno, alquilo C_{1-4} , alquenilo C_{2-6} ,
 25 hidroxialquilo C_{1-4} , alcoxi C_{1-4} , alcoxi C_{1-4} -alquilo C_{1-4} , haloalquilo C_{1-6} y mono- o di-(alquil C_{1-4})amino;

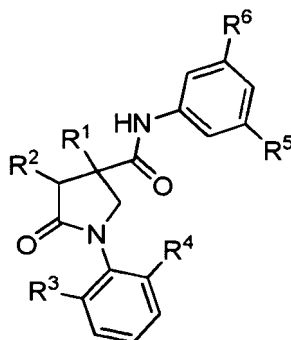
R^5 es un miembro seleccionado entre el grupo que consiste en CF_3 , halógeno, ciano, alquilo C_{1-4} , alquenilo C_{2-6} ,
 30 hidroxialquilo C_{1-4} , alcoxi C_{1-5} , alcoxi C_{1-4} -alquilo C_{1-4} , alcoxi C_{1-4} -alcoxi C_{1-4} , cicloalquilo C_{3-8} , cicloalquiloxi C_{3-8} ,
 cicloheteroalquilo C_{3-8} , cicloheteroalquil C_{3-8} -alquilo C_{1-3} y mono- o di-(alquil C_{1-4})amino;

R^6 y R^{6a} son cada uno miembros seleccionados el grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, ciano, alquilo C_{1-4} ,
 35 haloalquilo C_{1-4} , alquenilo C_{2-6} , hidroxialquilo C_{1-4} , alcoxi C_{1-5} , alcoxi C_{1-4} -alquilo C_{1-4} , alcoxi C_{1-4} -alcoxi C_{1-4} ,
 cicloalquilo C_{3-8} , cicloalquiloxi C_{3-8} , cicloheteroalquilo C_{3-8} , cicloheteroalquil C_{3-8} -alquilo C_{1-3} y mono- o di-(alquil
 C_{1-4})amino;

en los que cualquiera de las porciones de anillo de R^1 , R^2 , R^3 , R^{3a} , R^4 , R^5 , R^6 y R^{6a} , incluyendo los anillos
 condensados, están opcionalmente sustituidas con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente entre el
 grupo que consiste en halógeno, alquilo C_{1-4} , bencilo, oxo y alcocarbonilo C_{1-6} , y cualquiera de las porciones
 35 cicloalquilo y cicloheteroalquilo tienen opcionalmente un doble enlace entre vértices del anillo;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

2. Un compuesto de la reivindicación 1, que tiene la fórmula:



(Ia)

o un estereoisómero, rotámero o una variante enriquecida isotópicamente del mismo, en la que

R^3 , R^4 y R^5 tienen los mismos significados proporcionados en la reivindicación 1;

R^1 es un miembro seleccionado entre el grupo que consiste en hidroxilo, alquilo C_{1-8} , alquenilo C_{2-8} , alcoxi C_{1-8} , alcoxi C_{1-8} -alquilo C_{1-8} , haloalquilo C_{1-8} , hidroxialquilo C_{1-8} , cicloalquilo C_{3-8} , cicloheteroalquilo C_{3-8} , cicloalquil C_{3-8} -alquilo C_{1-3} , cicloheteroalquil C_{3-8} -alquilo C_{1-3} , heteroarilo, heteroaril-alquilo C_{1-4} , ariloxi- alquilo C_{1-4} , aril-alcoxi C_{1-2} -alquilo C_{1-4} , $-NR^aR^b$ y R^aR^b -alquilo C_{1-4} ;

R^2 es un miembro seleccionado entre el grupo que consiste en H, alquilo C_{1-8} , alquenilo C_{2-8} ;

u opcionalmente, R^1 y R^2 se combinan para formar un anillo de cuatro a seis miembros condensado al anillo pirrolidinona y que tiene al menos un heteroátomo de vértice de anillo seleccionado entre el grupo que consiste en O, S y N;

R^6 es CF_3 ; o

una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

3. Un compuesto de la reivindicación 1, en el que:

(a) R^3 es metilo;

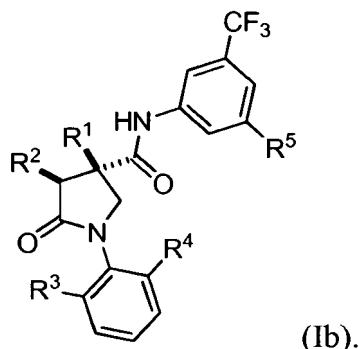
(b) R^3 es metilo y R^4 es H o alquilo C_{1-4} ;

(c) R^2 es H o alquilo C_{1-8} , R^3 es metilo, y R^4 es H o alquilo C_{1-4} ;

(d) R^5 es CF_3 ; o

(e) R^3 es metilo y R^5 es CF_3 ,

4. Un compuesto de la reivindicación 1, que tiene la fórmula:



5. Un compuesto de la reivindicación 4, en el que:

(a) R^1 se selecciona entre el grupo que consiste en $-NR^aR^b$ y R^aR^b -alquilo C_{1-4} ;

(b) R^3 y R^4 son cada uno metilo, y opcionalmente en el que R^5 se selecciona entre el grupo que consiste en CF_3 , CN y ciclopropilo;

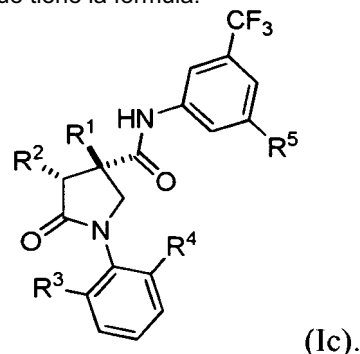
(c) R^1 es mono- o di-(alquil C_{1-4})amino-alquilo C_{1-4} , y R^3 es metilo, y opcionalmente en el que R^1 es di(alquil C_{1-4})aminometilo; o

(d) R^2 y R^3 son cada uno metilo.

6. Un compuesto de la reivindicación 5 y como se ha definido en el apartado (a), en el que R^1 es R^aR^b -alquilo C_{1-4} .

7. Un compuesto de la reivindicación 5 y como se ha definido en el apartado (a), en el que R^1 es $-NR^aR^b$.

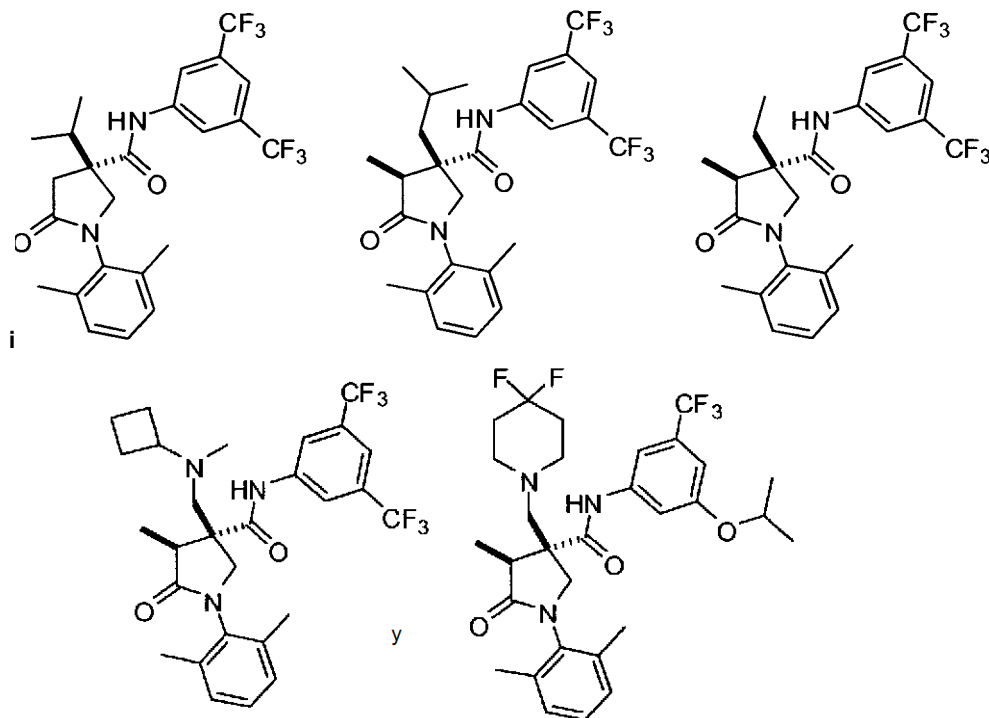
8. Un compuesto de la reivindicación 1, que tiene la fórmula:



9. Un compuesto de la reivindicación 8, en el que R^2 es H, y cada uno de R^3 y R^4 es metilo, y opcionalmente en el que R^5 es CF_3 .

10. Un compuesto de la reivindicación 1, en el que el compuesto se selecciona entre los compuestos que se muestran en la Figura 1.

11. Un compuesto de la reivindicación 1 o 2 seleccionado entre el grupo que consiste en:



12. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 o un estereoisómero, rotámero, variante isotópicamente enriquecida o sal farmacéuticamente aceptable del mismo y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

13. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 o un estereoisómero, rotámero, variante isotópicamente enriquecida o sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en un método para tratar una enfermedad o trastorno en un mamífero.

14. Un compuesto o un estereoisómero, rotámero, variante isotópicamente enriquecida o sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso de acuerdo con la reivindicación 13, en el que dicho mamífero es un ser humano, y opcionalmente en el que dicha enfermedad o trastorno es:

- (a) una afección inflamatoria; o
- (b) se selecciona del grupo que consiste en trastornos celulares, neurológicos, de la piel o metabólicos.

15. Uso de un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 o un estereoisómero, rotámero, variante isotópicamente enriquecida o sal farmacéuticamente aceptable del mismo en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una afección inflamatoria o un trastorno celular neurológico, de la piel o metabólico en un mamífero.

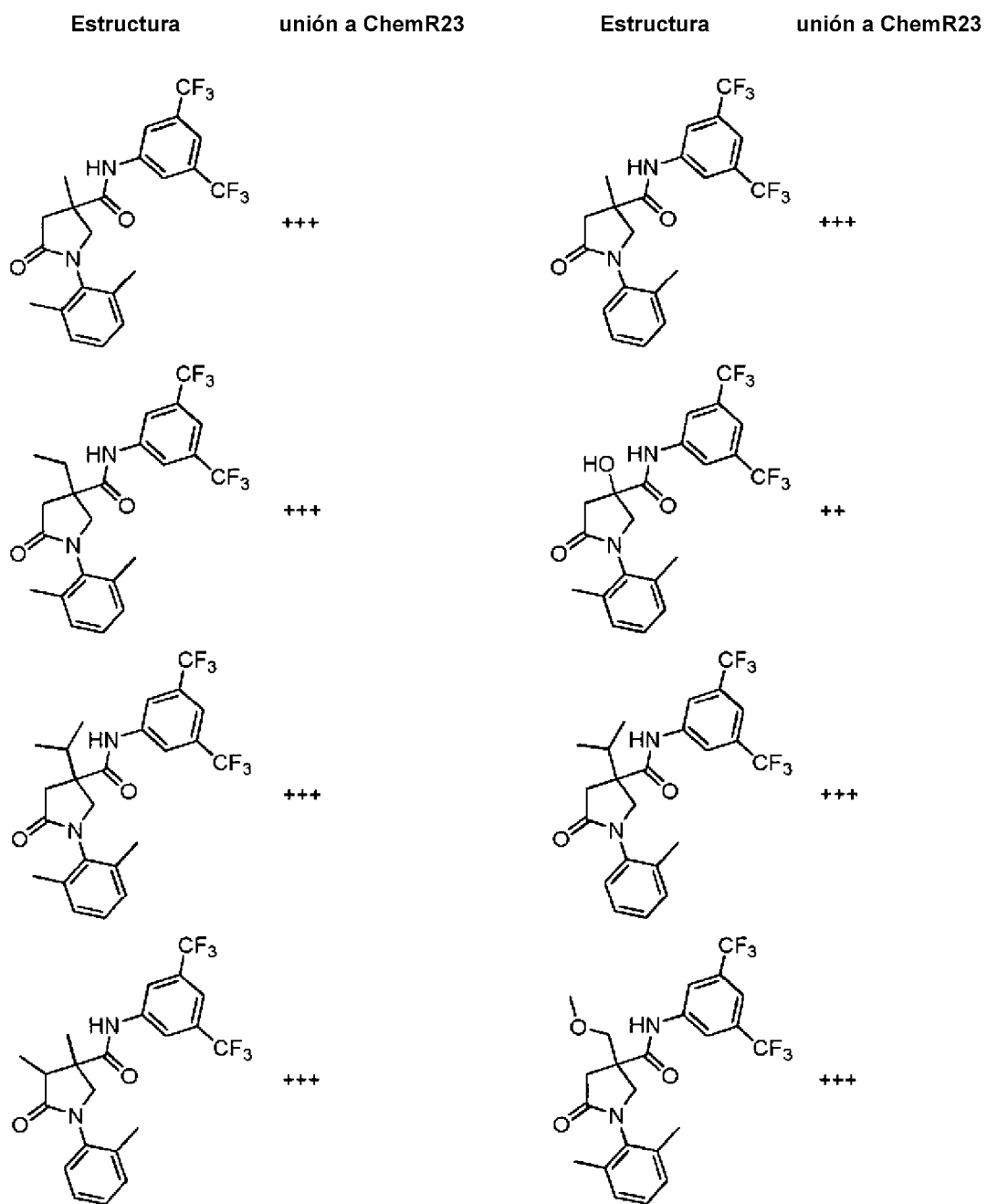


FIG. 1 (Hoja 1 de 25)

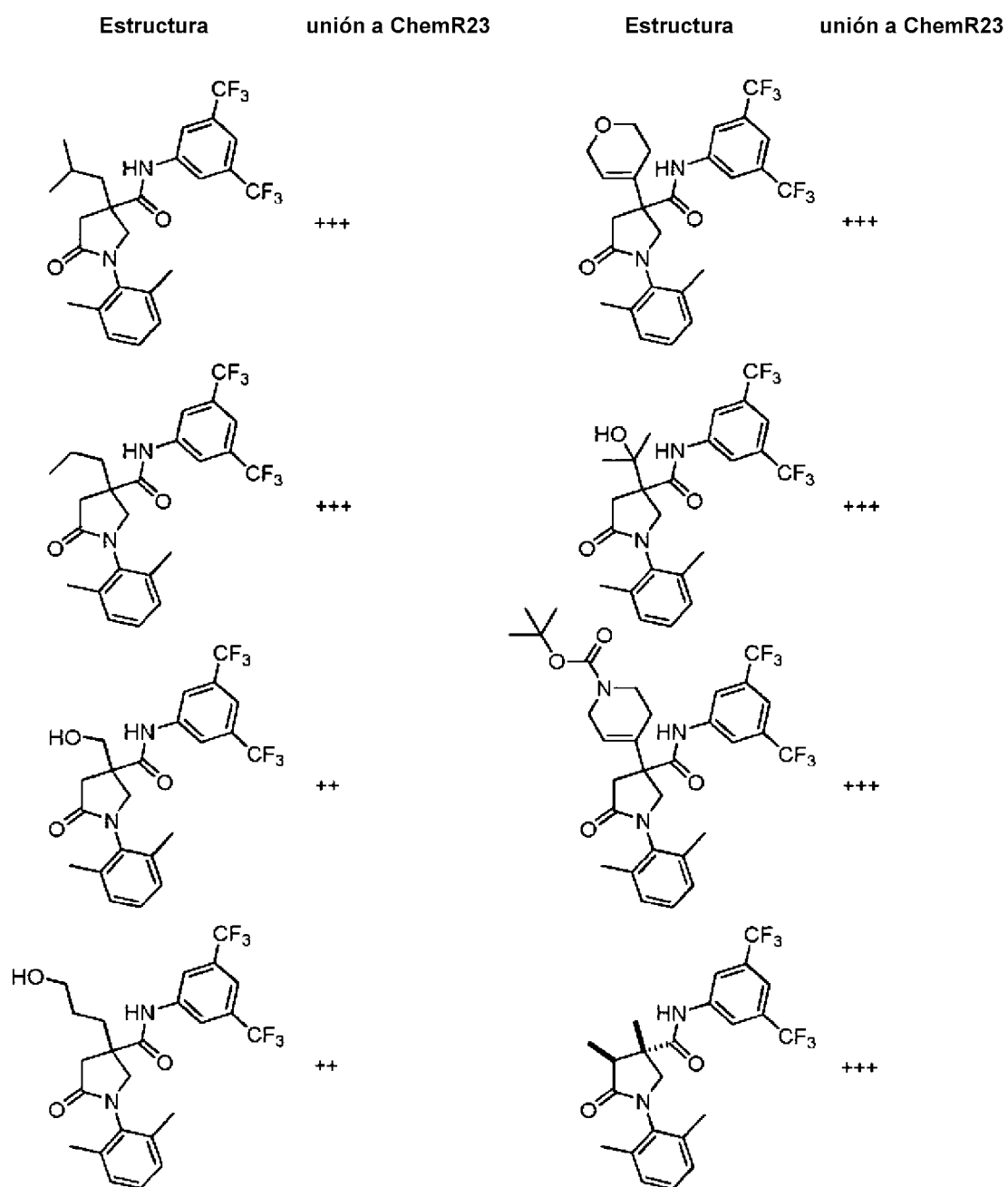


FIG. 1 (Hoja 2 de 25)

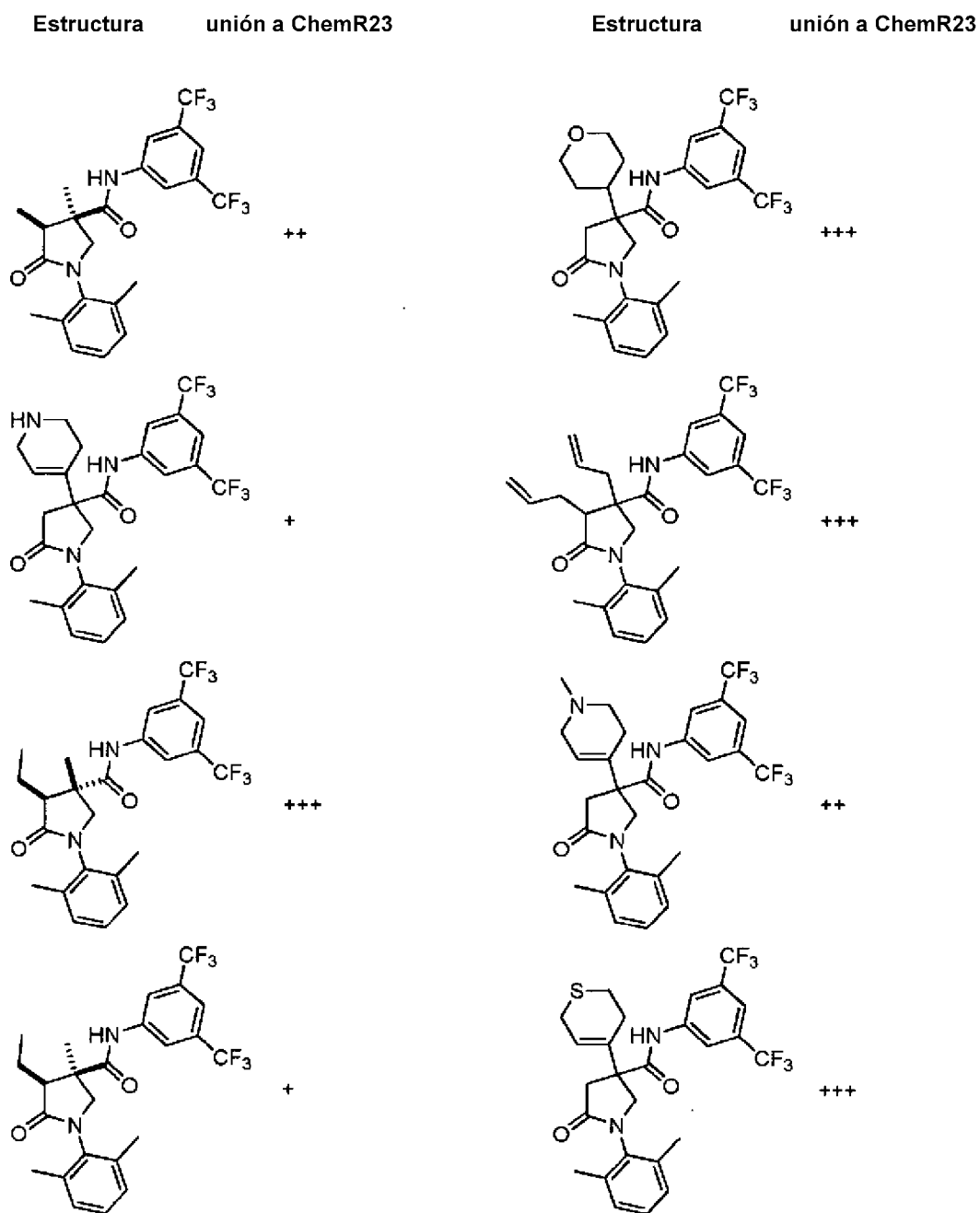


FIG. 1 (Hoja 3 de 25)

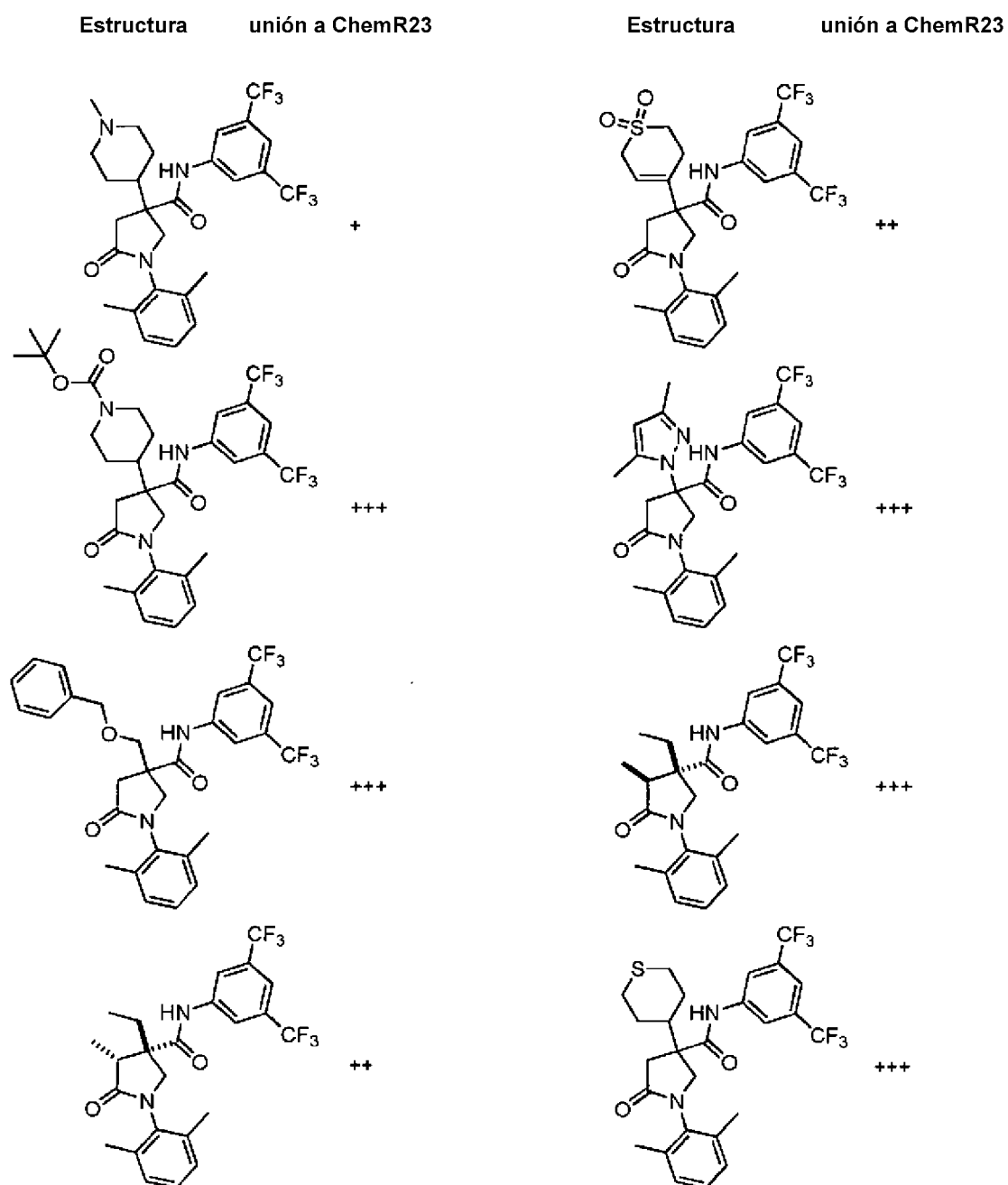


FIG. 1 (Hoja 4 de 25)

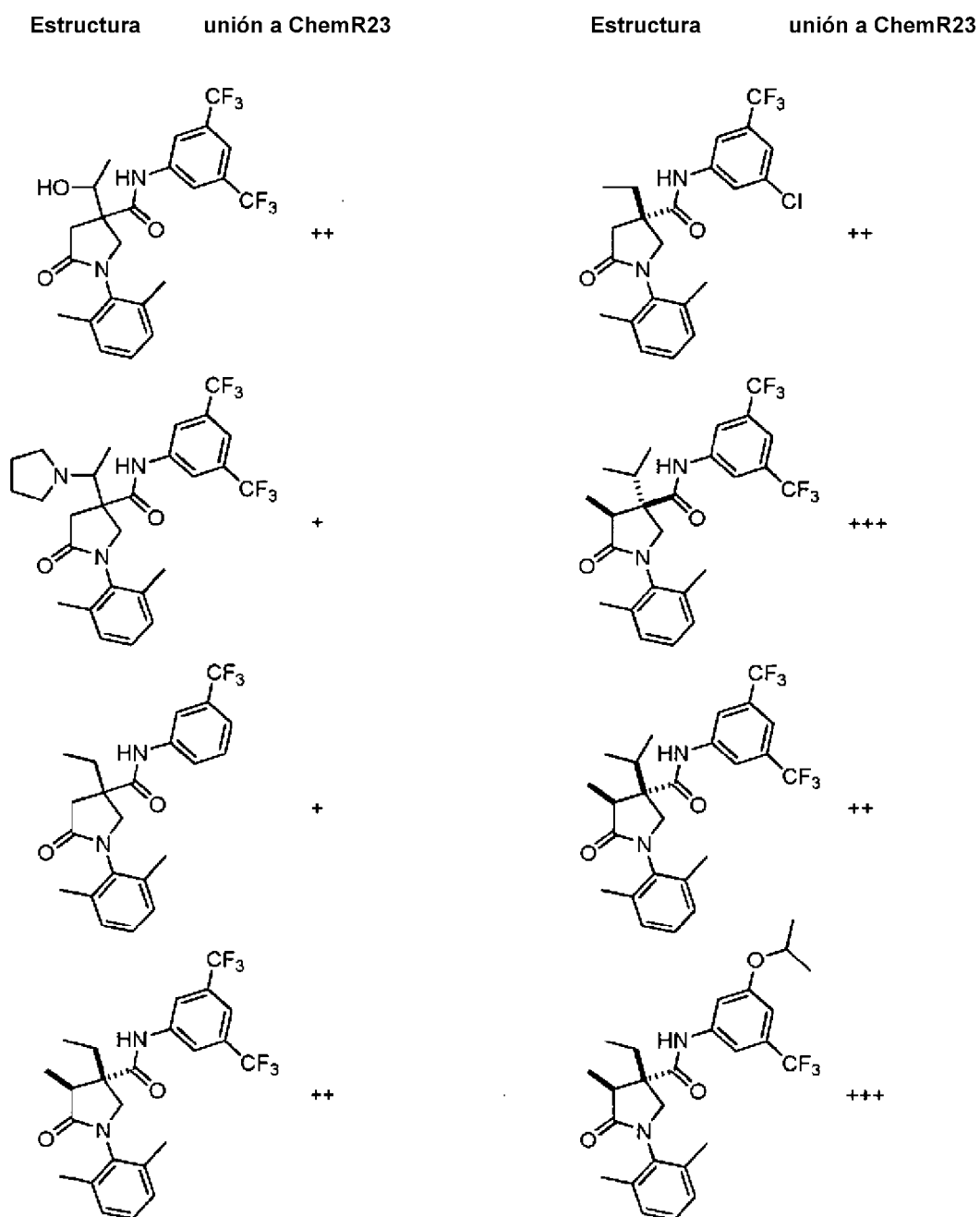


FIG. 1 (Hoja 5 de 25)

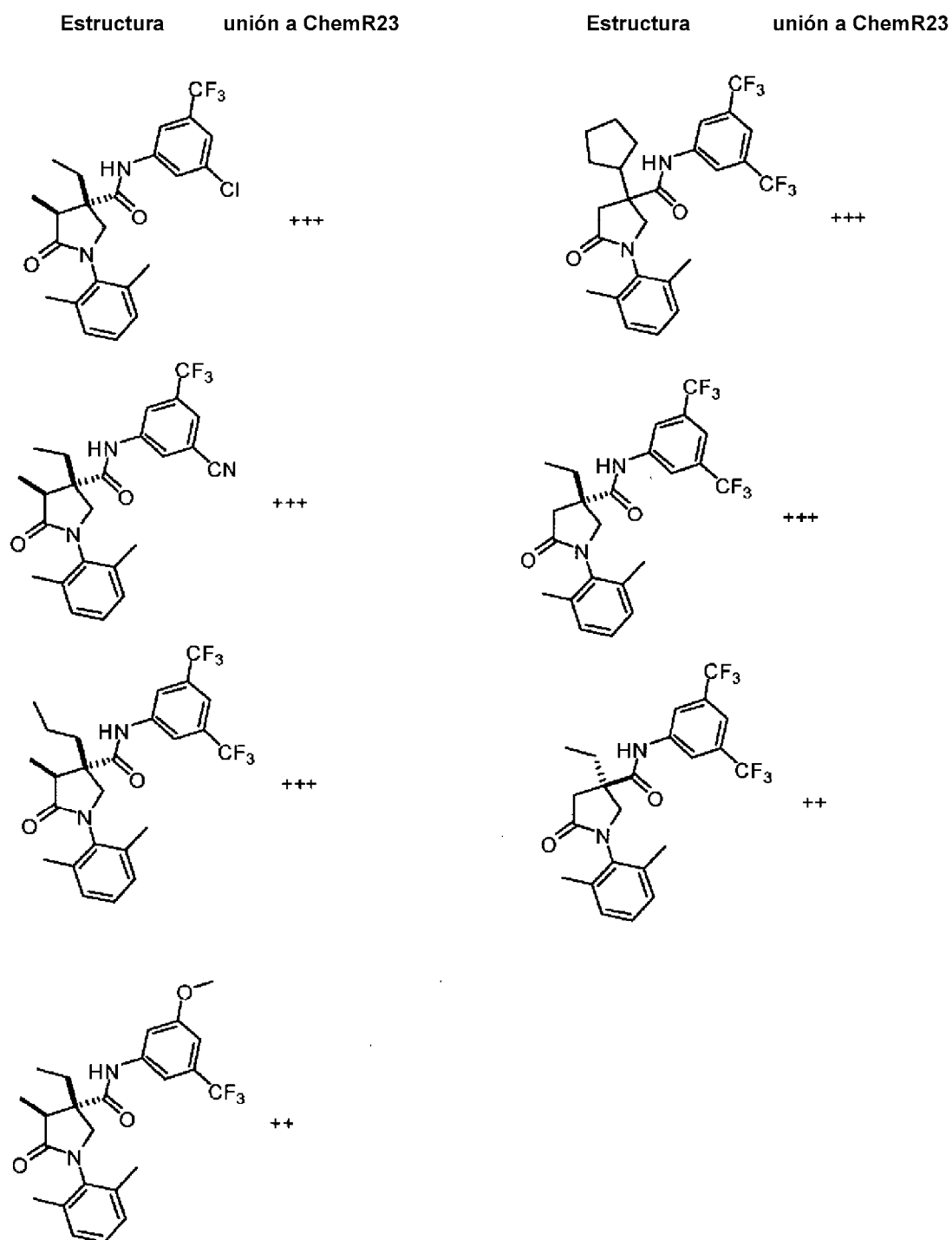


FIG. 1 (Hoja 6 de 25)

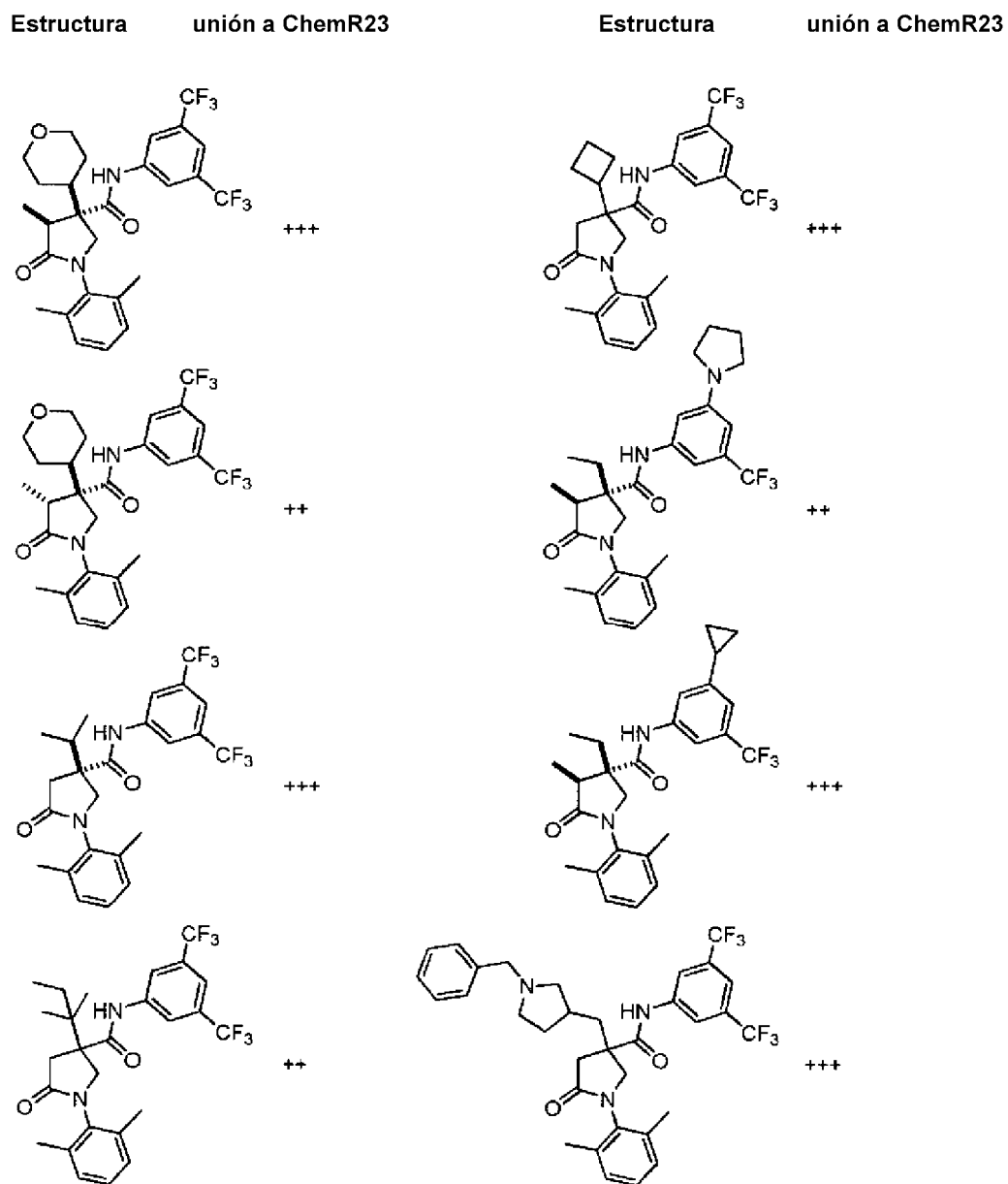


FIG. 1 (Hoja 7 de 25)

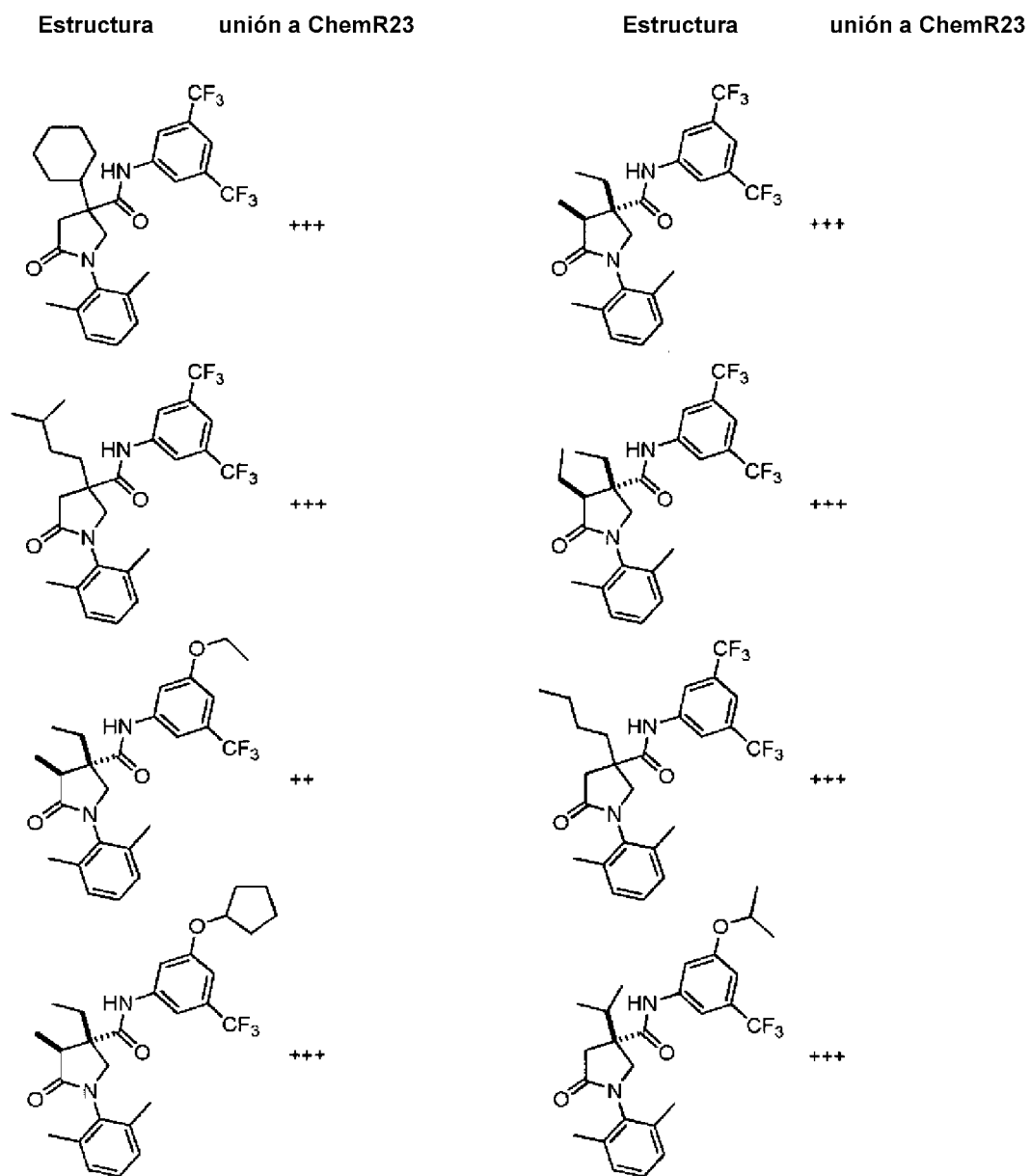


FIG. 1 (Hoja 8 de 25)

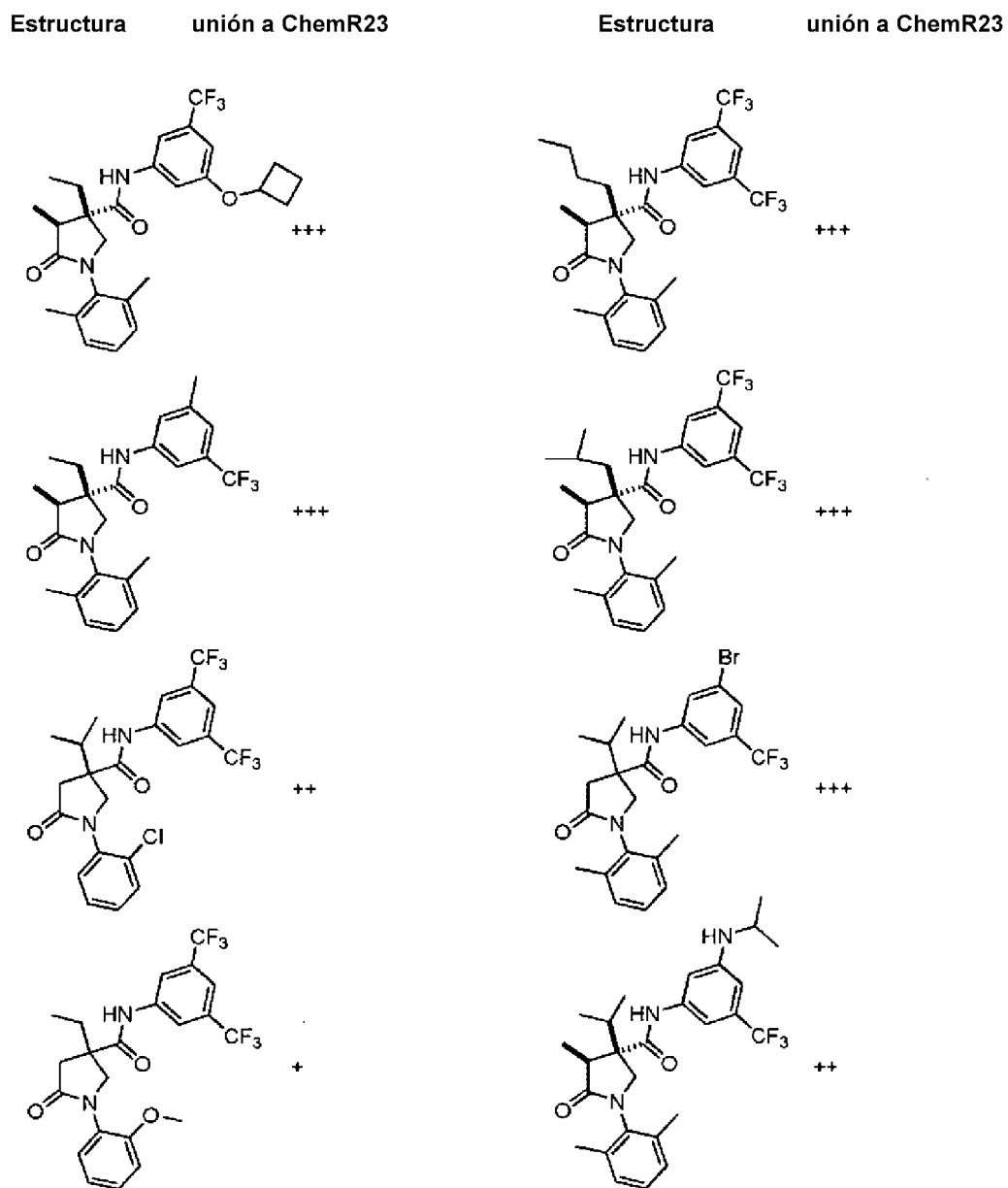


FIG. 1 (Hoja 9 de 25)

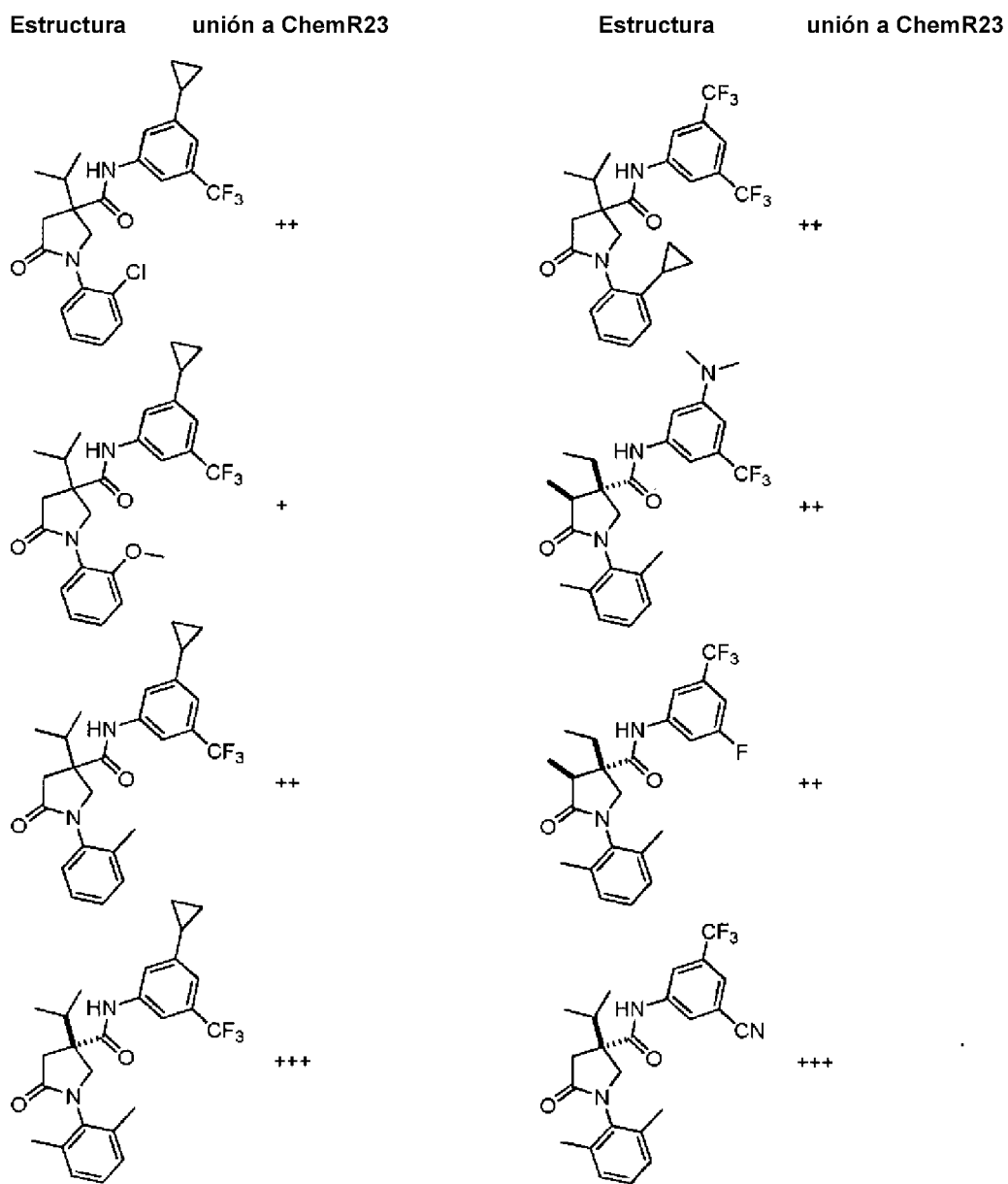


FIG. 1 (Hoja 10 de 25)

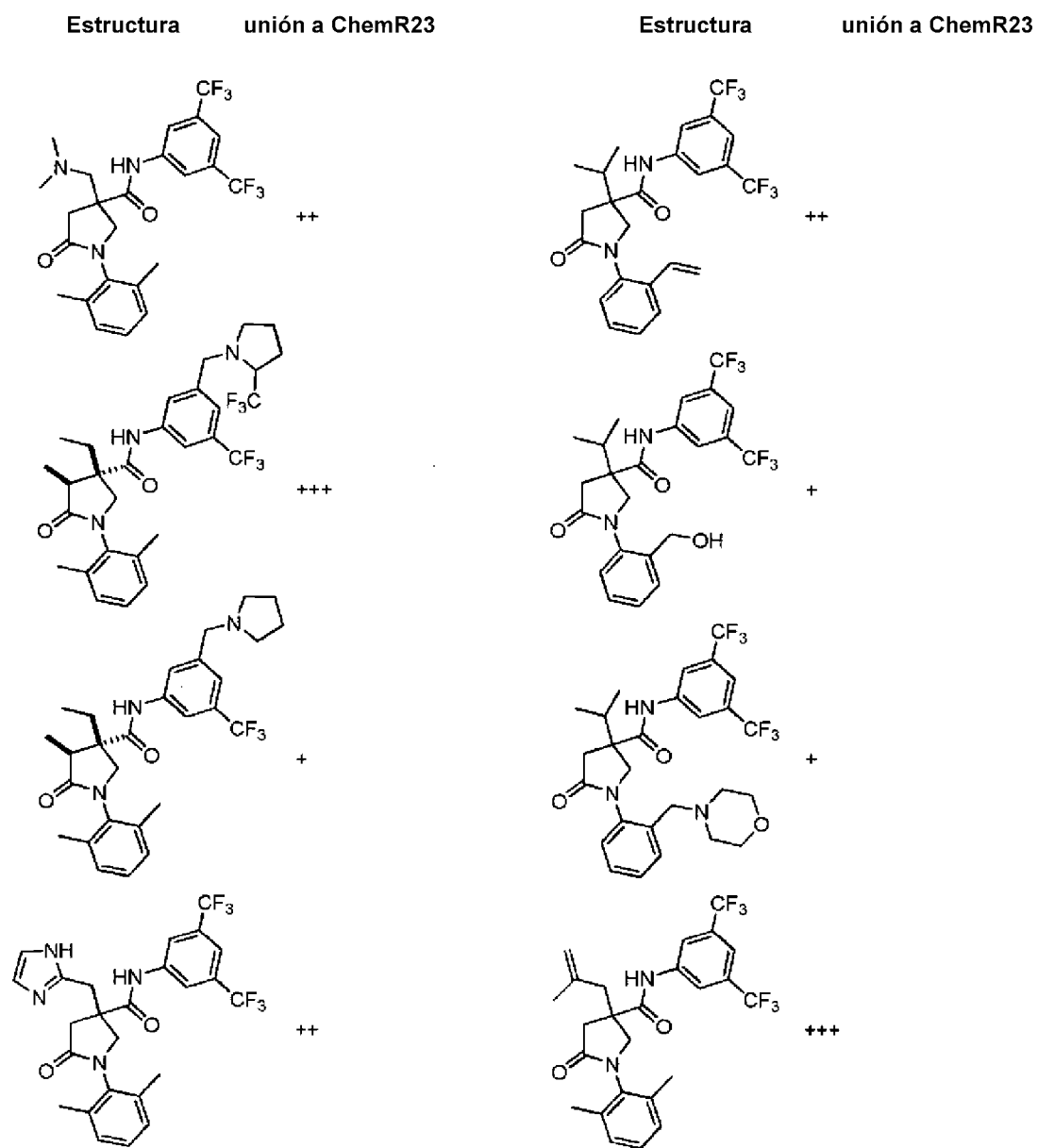


FIG. 1 (Hoja 11 de 25)

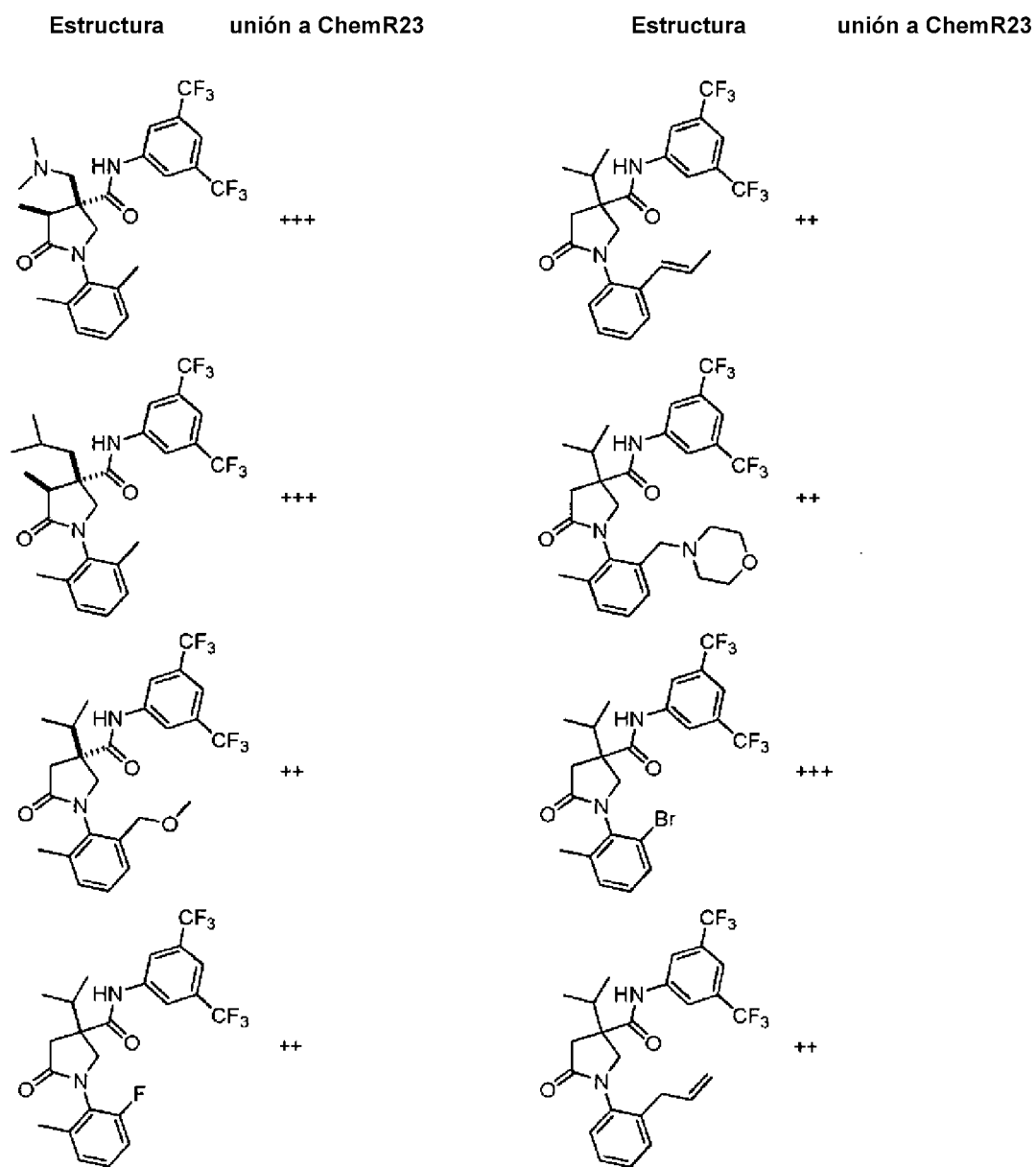


FIG. 1 (Hoja 12 de 25)

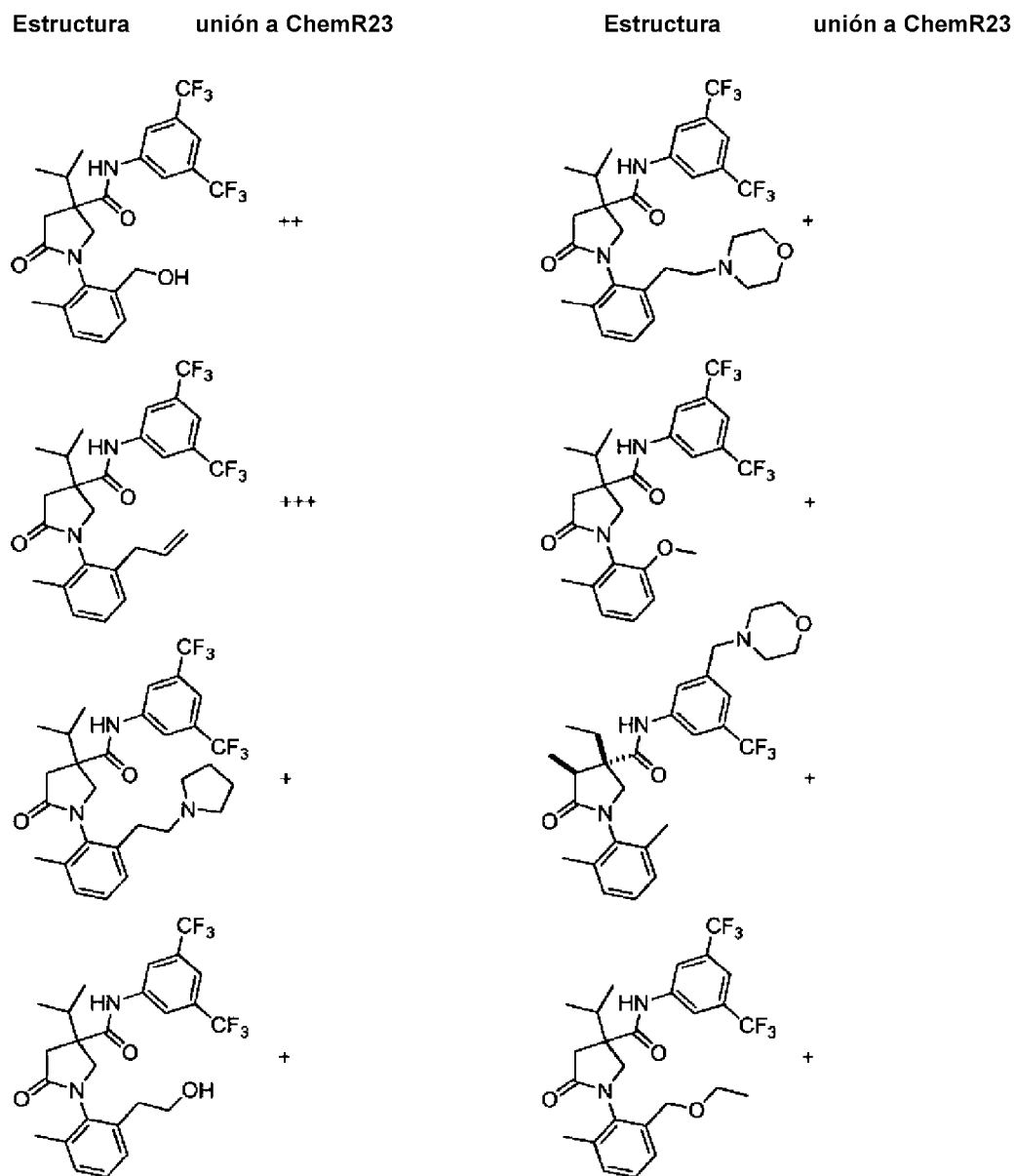


FIG. 1 (Hoja 13 de 25)

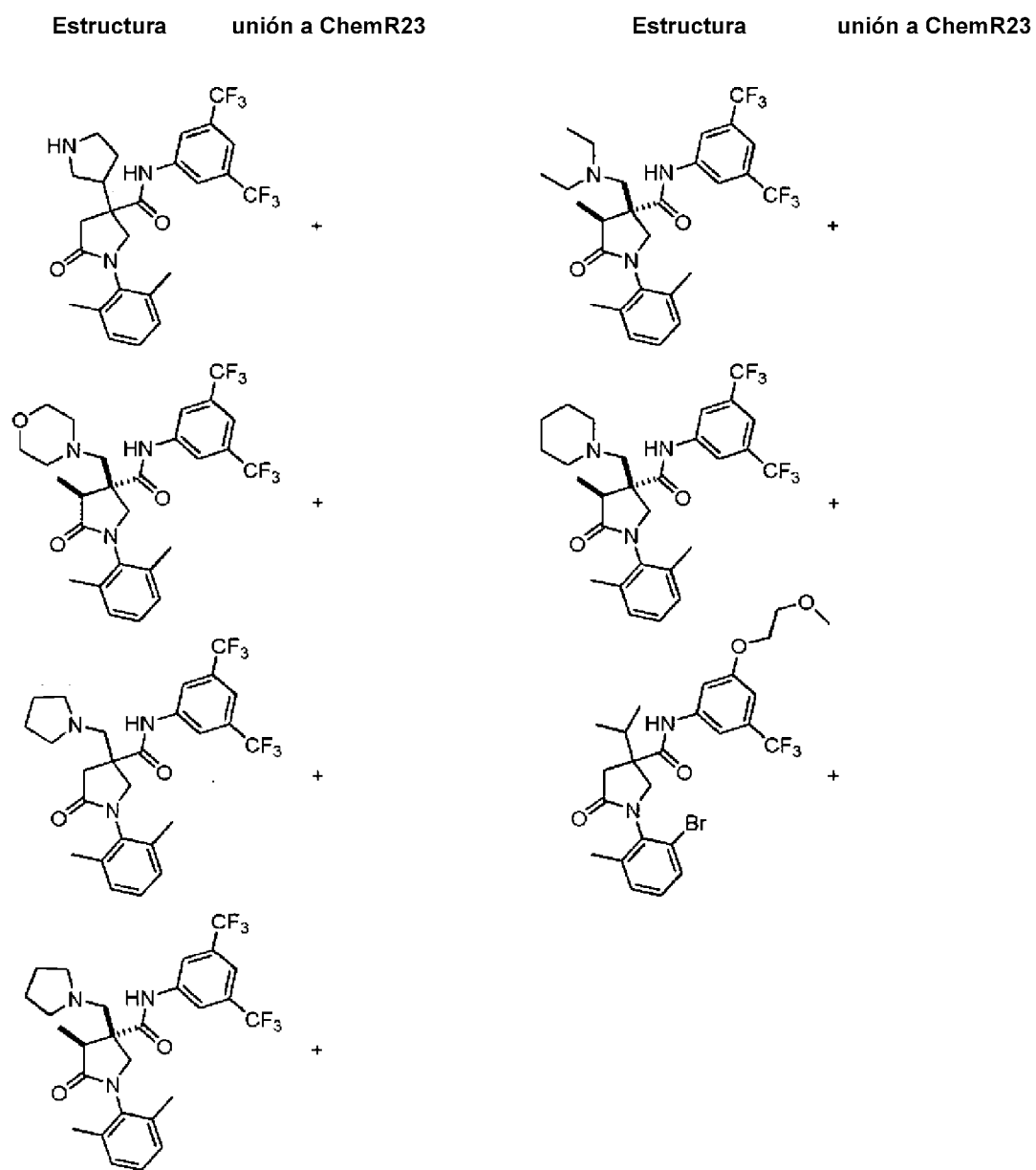


FIG. 1 (Hoja 14 de 25)

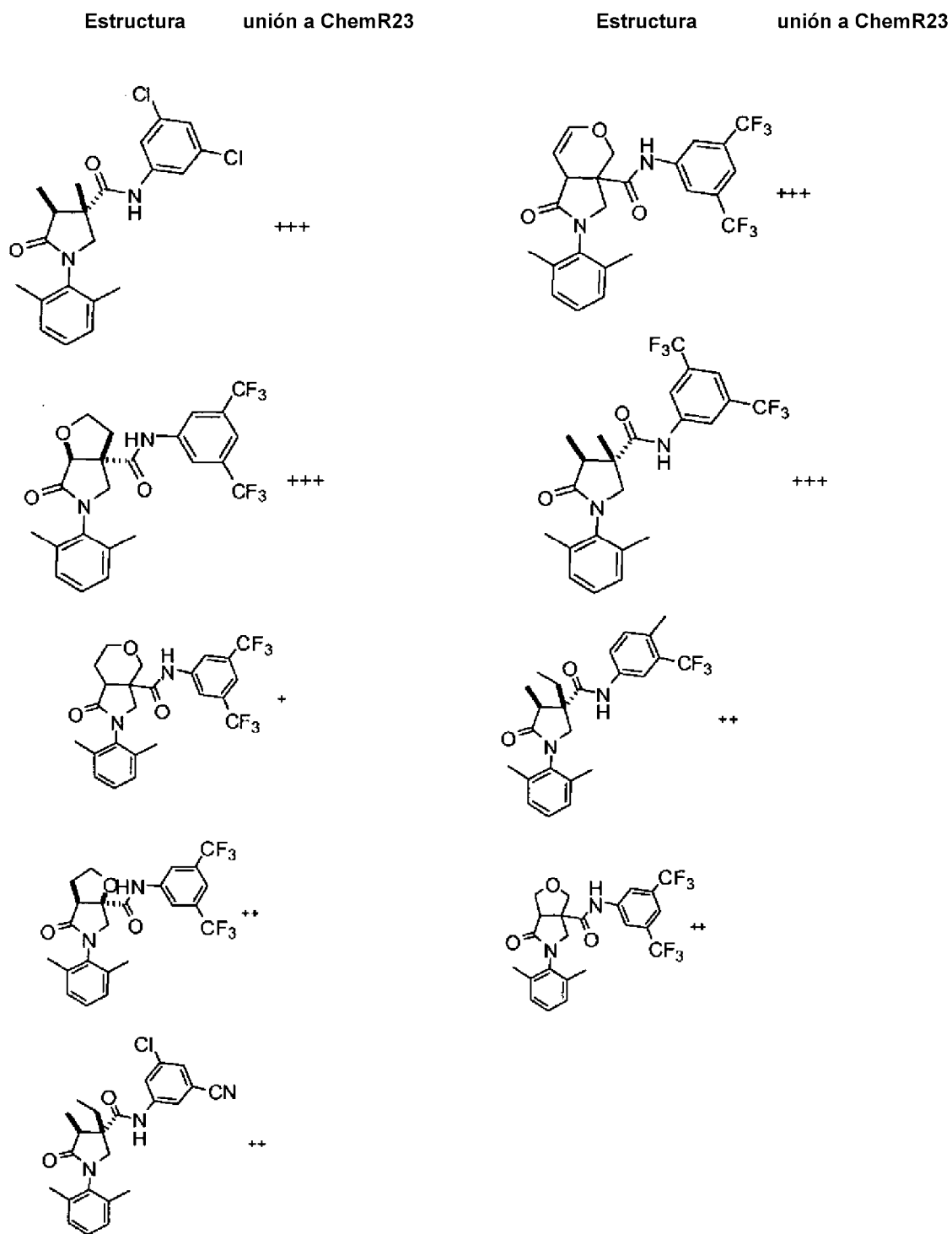


FIG. 1 (Hoja 15 de 25)

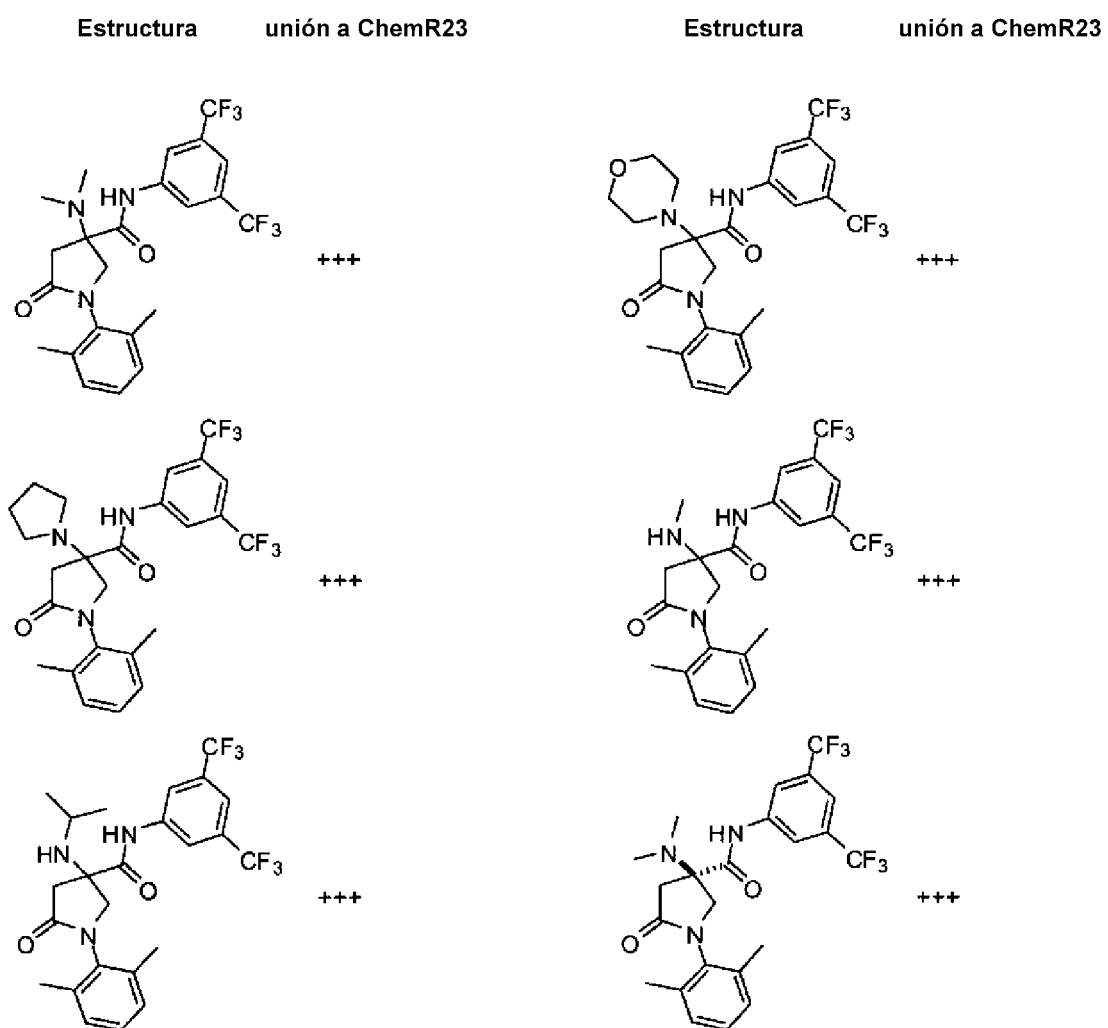


FIG. 1 (Hoja 16 de 25)

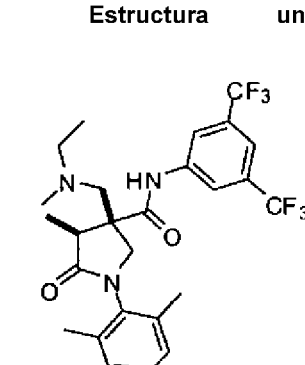
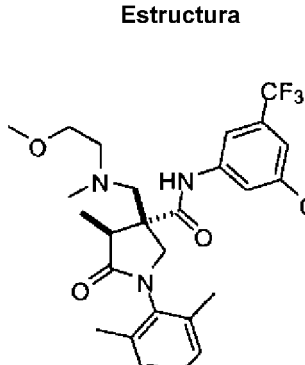
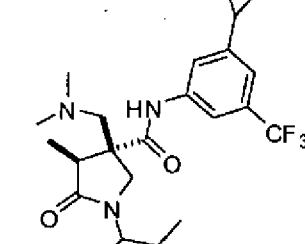
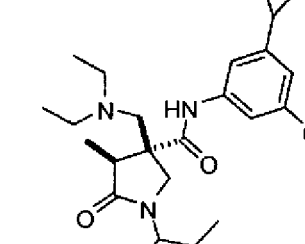
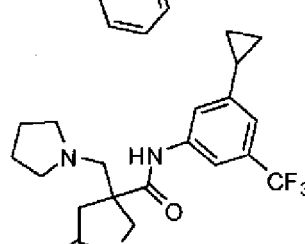
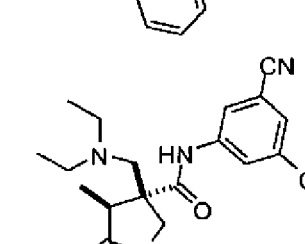
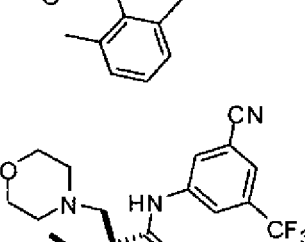
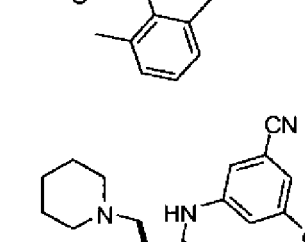
Estructura	unión a ChemR23	Estructura	unión a ChemR23
	+++		++
	++		+++
	+++		+++
	++		+++

FIG. 1 (Hoja 17 de 25)

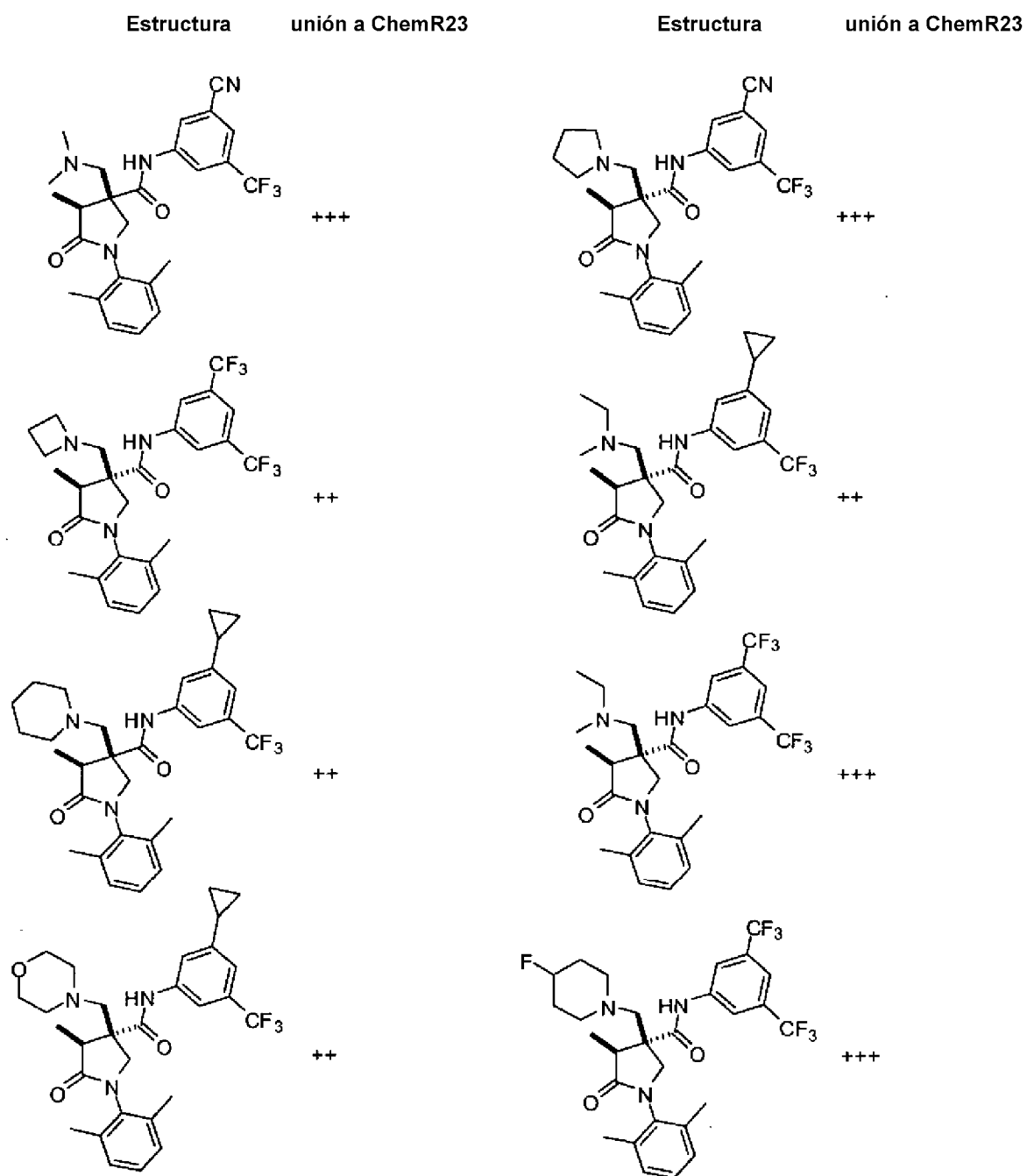


FIG. 1 (Hoja 18 de 25)

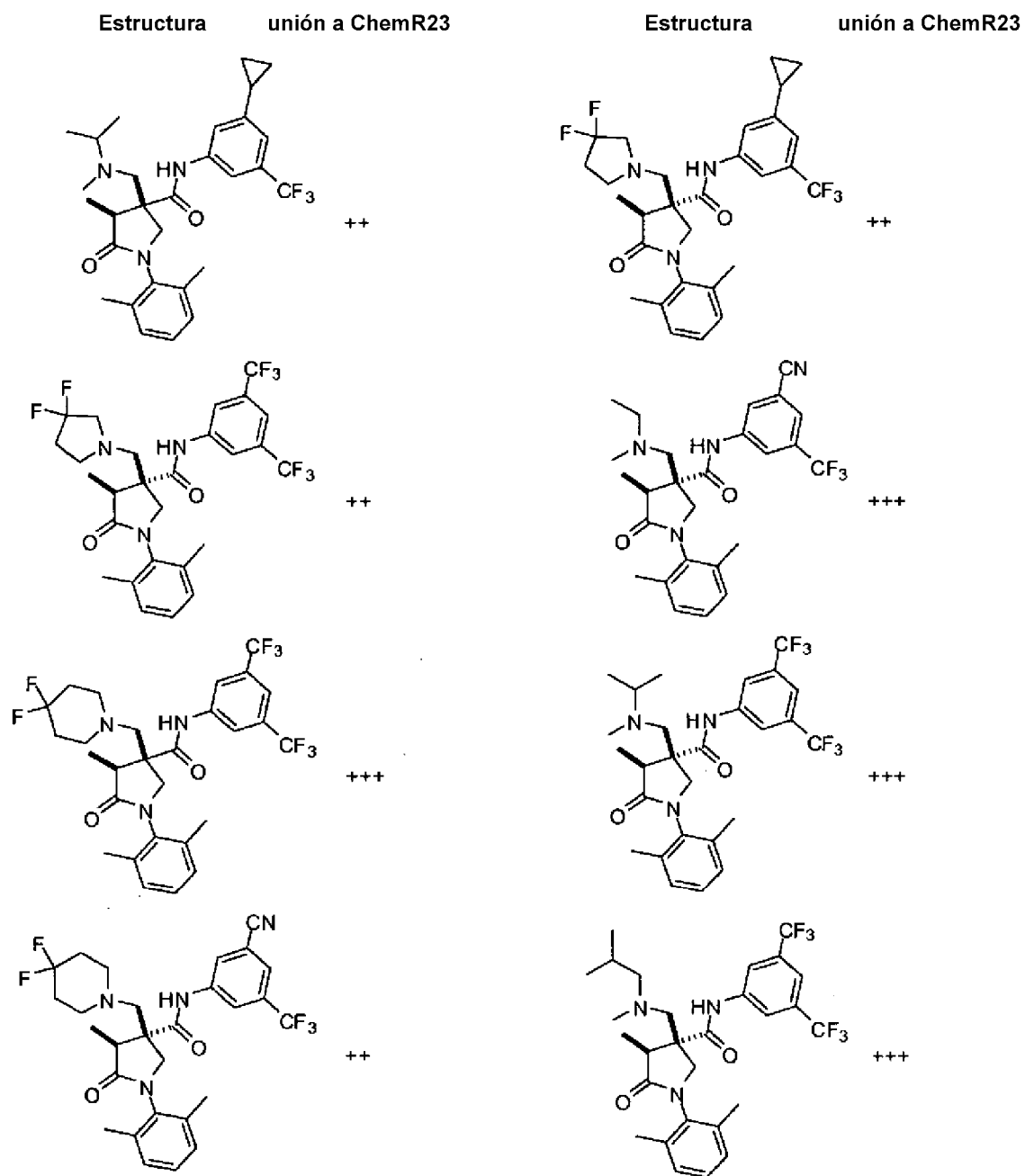


FIG. 1 (Hoja 19 de 25)

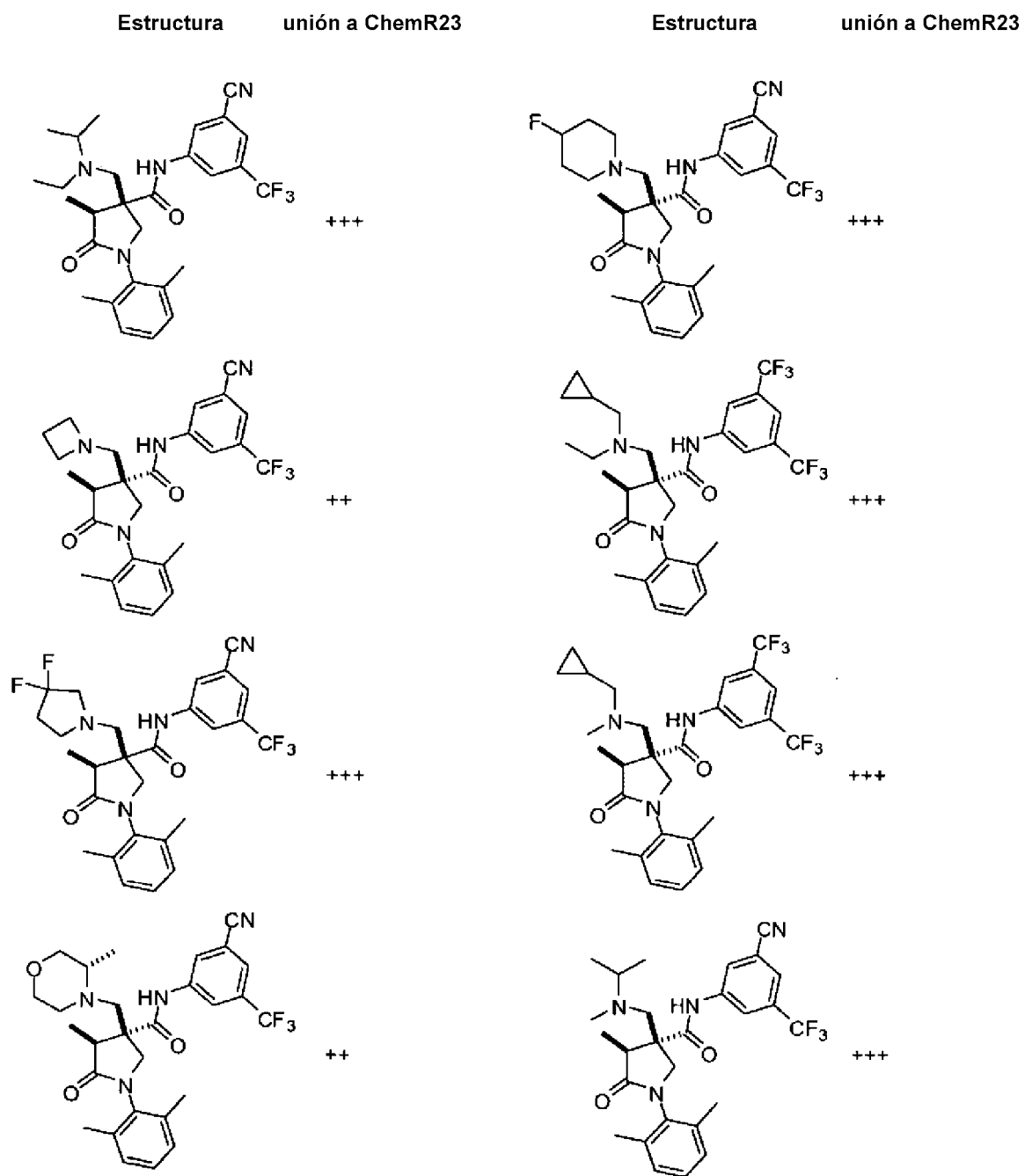


FIG. 1 (Hoja 20 de 25)

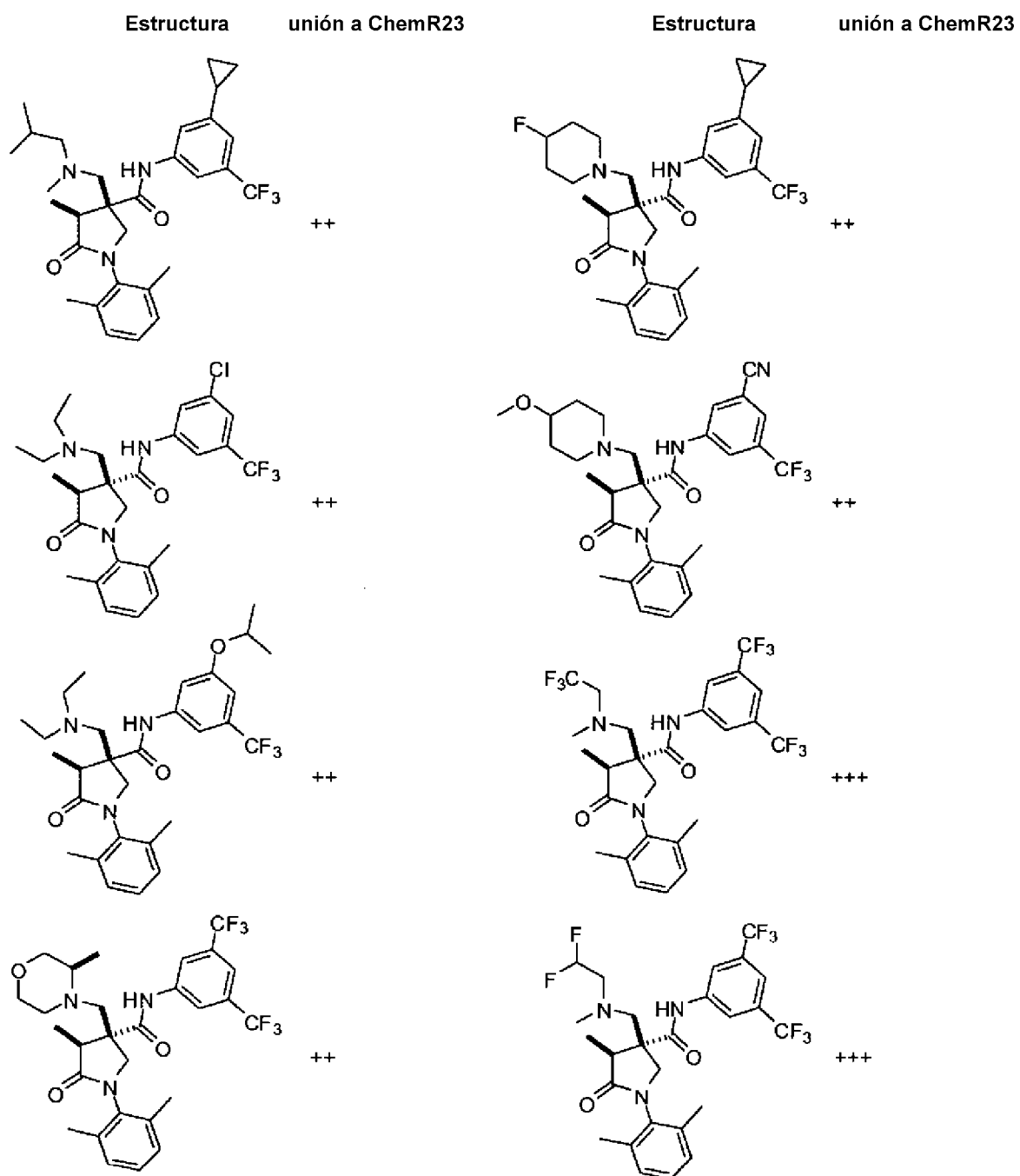


FIG. 1 (Hoja 21 de 25)

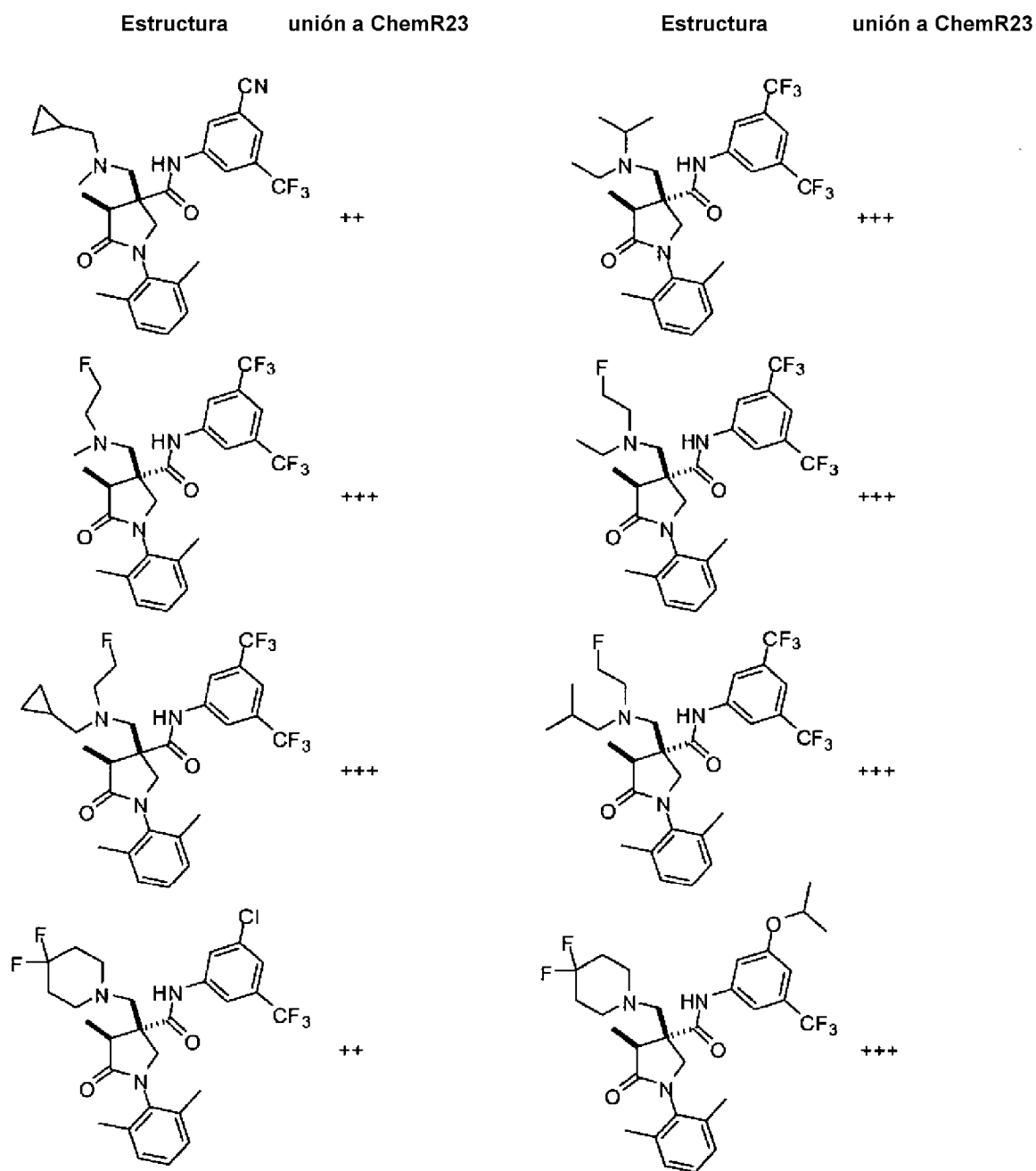


FIG. 1 (Hoja 22 de 25)

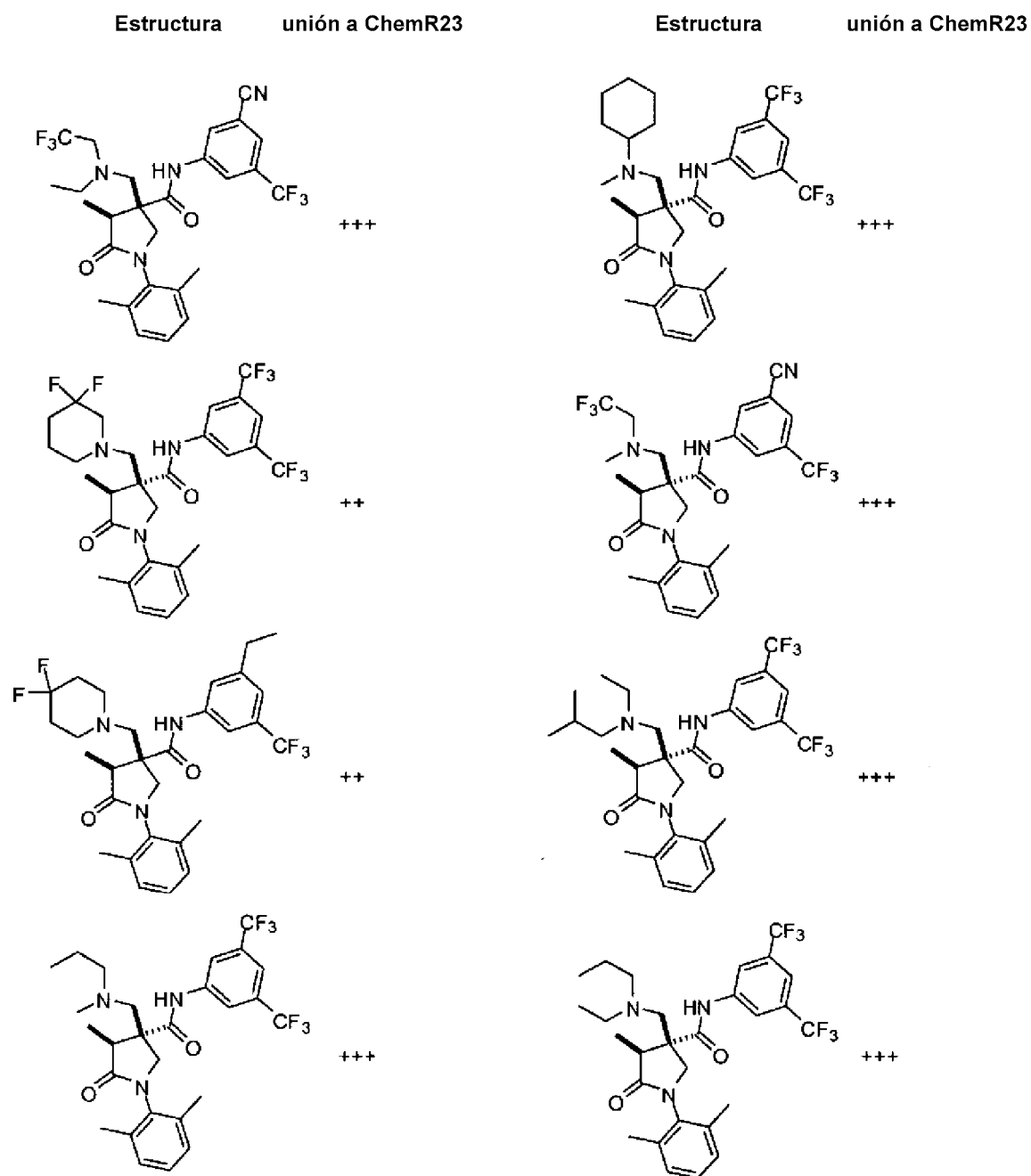


FIG. 1 (Hoja 23 de 25)

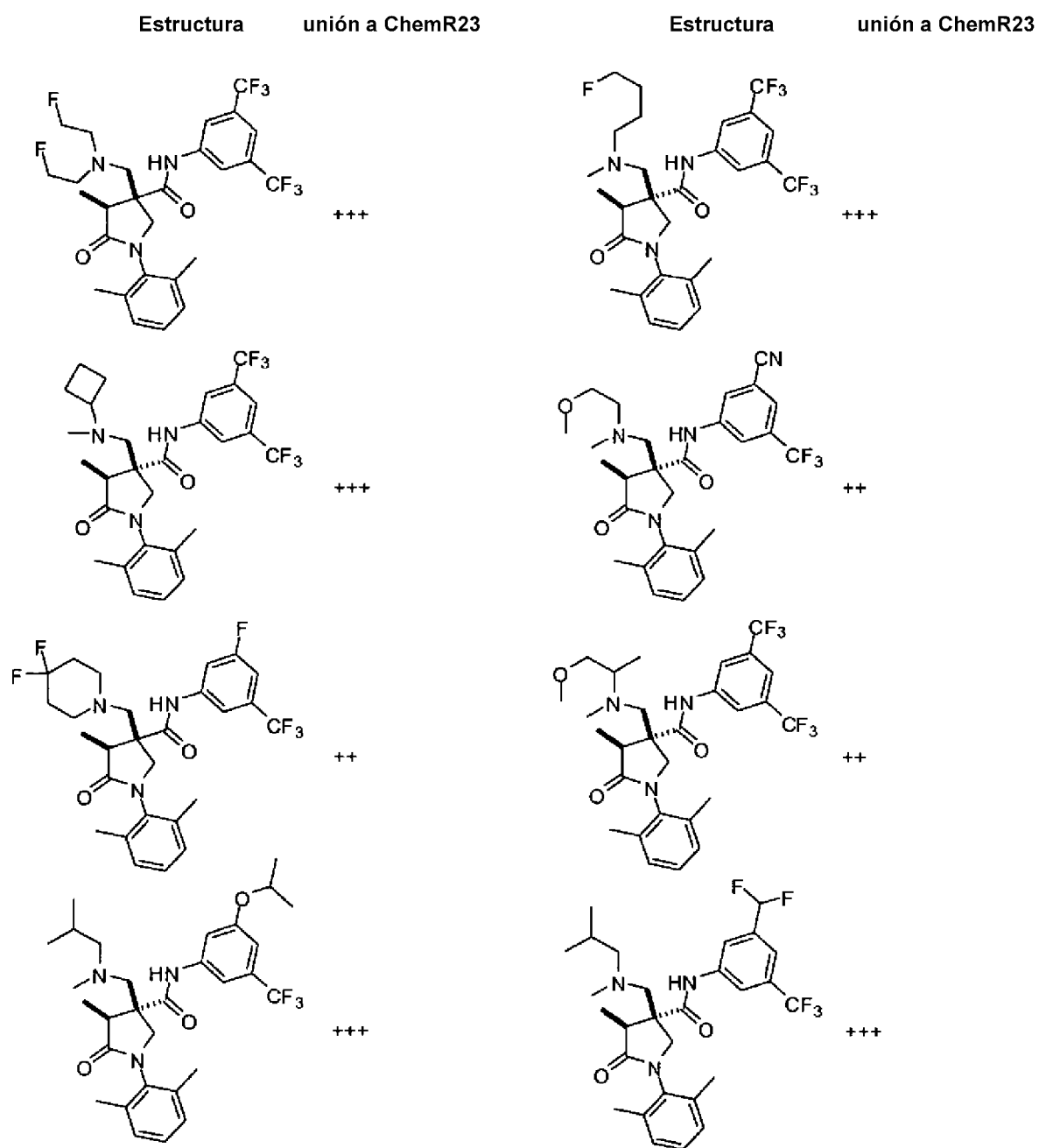


FIG. 1 (Hoja 24 de 25)

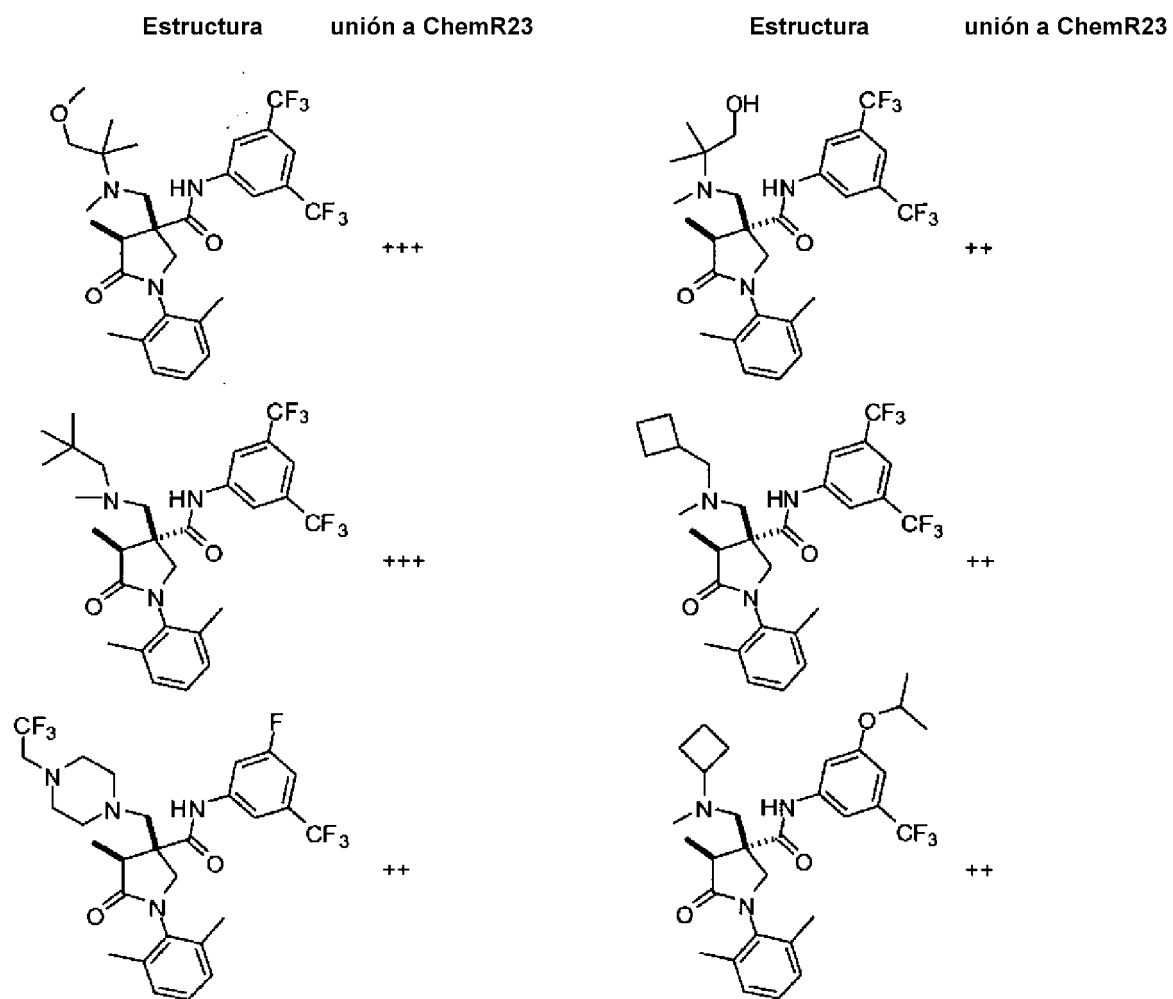


FIG. 1 (Hoja 25 de 25)