

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 564 732**

51 Int. Cl.:

C07D 207/16 (2006.01)

C07D 401/12 (2006.01)

A61K 31/454 (2006.01)

A61P 1/00 (2006.01)

A61P 1/04 (2006.01)

A61P 43/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.09.2012 E 12831085 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.01.2016 EP 2757103**

54 Título: **Derivado de ácido pirrolidin-3-ilacético**

30 Prioridad:

13.09.2011 JP 2011199482

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

28.03.2016

73 Titular/es:

**EISAI R&D MANAGEMENT CO., LTD. (100.0%)
6-10, Koishikawa 4-chome, Bunkyo-ku
Tokyo 112-8088, JP**

72 Inventor/es:

**YOSHIDA, ICHIRO;
OKABE, TADASHI;
MATSUMOTO, YASUNOBU;
WATANABE, NOBUHISA;
OHASHI, YOSHIAKI;
ONIZAWA, YUJI y
HARADA, HITOSHI**

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 564 732 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

Derivado de ácido pirrolidin-3-ilacético

Campo técnico

5 La presente invención se refiere a un derivado de ácido pirrolidin-3-ilacético. Más particularmente, la presente invención se refiere a un derivado de ácido pirrolidin-3-ilacético que tiene disponibilidad como agente terapéutico para enfermedad inflamatoria del intestino.

Técnica Antecedente

10 Las quimiocinas son factores de migración celular importantes, y regulan la infiltración de linfocitos en tejidos a través de la mejora del movimiento celular y la activación de moléculas de adhesión. Las quimiocinas se clasifican en cuatro subfamilias de CC, CXC, C y CX3C, basándose en sus secuencias de los dos primeros restos de cisteína.

15 La fractalcina es el único miembro de quimiocinas CX3C, y tiene características bien definidas en su estructura y funciones, que no se encuentran en otras quimiocinas. La fractalcina se une a un receptor, CX3CR1, que puede mediar una potente adhesión sin mediación de selectina o integrina, incluso en presencia de un flujo sanguíneo fisiológico. Esto significa que el sistema de fractalcina-CX3CR1 media el mecanismo de infiltración de múltiples etapas a través de selectina o integrina mediante una única reacción de una etapa.

La expresión de fractalcina en células endoteliales vasculares es inducida por citocinas inflamatorias TNF e IL-1. Por otro lado, CX3CR1 es expresado en monocitos, casi todas las células NK y algunas células T, pero no es expresado en neutrófilos. Por lo tanto, se considera que el sistema de fractalcina-CX3CR1 es un mecanismo extremadamente eficaz para movilizar células inmunitarias sobre las células endoteliales de células dañadas o en los tejidos.

20 Con respecto a la relación entre el sistema de fractalcina-CX3CR1 y las patologías, se sugiere que el sistema de fractalcina-CX3CR1 está implicado en el desarrollo y patologías de enfermedades autoinmunitarias tales como artritis reumatoide, enfermedad inflamatoria del intestino, lupus nefrítico y esclerosis múltiple (Bibliografía 1 No de Patente). En particular, con respecto a la enfermedad inflamatoria del intestino, se da a conocer que la expresión de fractalcina está potenciada en sitios inflamatorios de tejidos colónicos de pacientes, y que CX3CR1 desempeña un papel importante en la infiltración de células inmunitarias en el tejido del colon (Bibliografía 2 No de Patente).

25 Los anticuerpos descritos en la Bibliografía 1 de Patente, y los compuestos de bajo peso molecular descritos en las Bibliografías 2 a 6 de Patentes, se han conocido previamente como inhibidores de fractalcina.

Además, se describe que los compuestos descritos en la Bibliografía 7 de Patente son útiles como antagonistas del receptor CCR2 quimiocínico, pero difieren en la familia diana de quimiocinas con respecto a tales inhibidores.

LISTADO DE CITAS**Bibliografía de Patentes**

Bibliografía de Patente 1: Publicación de Solicitud de Patente Japonesa Abierta al Público nº 2002-345454

Bibliografía 2 de Patente: WO 2006/107257

Bibliografía 3 de Patente: WO 2006/107258

35 Bibliografía 4 de Patente: WO 2008/039138

Bibliografía 5 de Patente: WO 2008/039139

Bibliografía 6 de Patente: WO 2009/120140

Bibliografía 7 de Patente: Publicación de Solicitud de Patente U.S. Abierta al Público nº 2010/0210633

Bibliografía No de Patentes

40 Bibliografía 1 No de Patente: Umehara et al., "Fractalkine in Vascular Biology", Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol., Vol. 24, p. 34-40, 2004

Bibliografía 2 No de Patente: Kobayashi et al., "Exclusive Increase of CX3CR1_CD28_CD4_T Cells in Inflammatory Bowel Disease and Their Recruitment as Intraepithelial Lymphocytes", Inflamm. Bowel. Dis., Vol. 13, p. 837-846, 2007.

SUMARIO DE LA INVENCION

Problema técnico

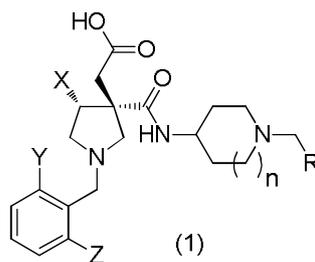
Un objeto de la presente invención es proporcionar un compuesto que tiene un efecto inhibitor en la ruta de fractalcina-CX3CR1.

Solución al problema

- 5 Como resultado de intensos estudios, los inventores han descubierto la presente invención. Específicamente, la presente invención se refiere a

[1] Un compuesto representado por la fórmula (1) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:

[Fórmula Química 1]



- 10 en la que R representa un grupo alquilo de C₁₋₆ no sustituido o que tiene de 1 a 3 sustituyentes seleccionados de átomos de halógeno, un grupo cicloalquilo de C₃₋₈ no sustituido o que tiene de 1 a 3 sustituyentes seleccionados de átomos de halógeno, o un grupo cicloalqueno de C₃₋₈ no sustituido o que tiene de 1 a 3 sustituyentes seleccionados de átomos de halógeno,

X representa un grupo alquilo de C₁₋₆,

- 15 Y y Z son iguales o diferentes entre sí, y cada uno representa un átomo de halógeno o un grupo alquilo de C₁₋₆ no sustituido o que tiene de 1 a 3 sustituyentes seleccionados de átomos de halógeno,

n representa 0 ó 1;

[2] El compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo según [1], en el que R es un grupo fluorobutilo, un grupo pentilo, un grupo ciclohexilo, un grupo difluorociclohexilo, un grupo ciclopentenilo o un grupo ciclohexenilo;

- 20 [3] El compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo según [1] o [2], en el que X es un grupo metilo;

[4] El compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo según uno cualquiera de [1] a [3], en el que Y es un átomo de cloro;

[5] El compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo según uno cualquiera de [1] a [4], en el que Z es un átomo de cloro, un grupo metilo, un grupo difluorometilo o un grupo trifluorometilo;

- 25 [6] El compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo según uno cualquiera de [1] a [5], en el que n es 1;

[7] Un compuesto según [1] seleccionado del grupo que consiste en:

ácido 2-[(3S,4R)-1-[[2-cloro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-3-[[1-(2-fluoropentil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético,

- 30 ácido 2-[(3S,4R)-1-[(2,6-diclorofenil)metil]-3-([1-(4,4-difluorociclohexil)metil]piperidin-4-il]carbamoil)-4-metilpirrolidin-3-il]acético,

ácido 2-[(3S,4R)-1-[[2-cloro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-3-[[1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético,

- 35 ácido 2-[(3S,4R)-1-[(2-cloro-6-metilfenil)metil]-3-[[1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético,

ácido 2-[(3S,4R)-1-[[2-cloro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-3-[[1-(ciclopent-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético,

ácido 2-[(3S,4R)-1-[(2-cloro-6-metilfenil)metil]-3-[[1-(ciclopent-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético,

ácido 2-[(3S,4R)-3-[(3S)-1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)pirrolidin-3-il]carbamoil]-1-[(2,6-diclorofenil)metil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético,

5 ácido 2-[(3S,4R)-1-[[2-cloro-6-(difluorometil)fenil]metil]-3-[(1-hexilpiperidin-4-il)carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético,

ácido 2-[(3S,4R)-3-[[1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-1-[(2,6-diclorofenil)metil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético,

ácido 2-[(3S,4R)-1-[[2-cloro-6-(difluorometil)fenil]metil]-3-[[1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético,

10 ácido 2-[(3S,4R)-1-[[2-cloro-6-(difluorometil)fenil]metil]-3-[[1-(ciclopent-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético y

ácido 2-[(3S,4R)-1-[[2-cloro-6-(difluorometil)fenil]metil]-3-[[1-(ciclohexilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético,

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos;

15 [8] Un compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo según uno cualquiera de [1] a [7], para uso en terapia;

[9] Un compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo según uno cualquiera de [1] a [7], para uso en el tratamiento de enfermedad inflamatoria del intestino;

20 [10] El compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo según [9], en el que la enfermedad inflamatoria del intestino es colitis ulcerosa o enfermedad de Crohn;

[11] El compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo según uno cualquiera de [1] a [7], para uso como un inhibidor de la ruta de fractalcina-CX3CR1;

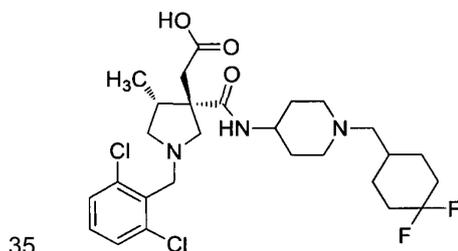
[12] El compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo según uno cualquiera de [1] a [7], para uso como un inhibidor de fractalcina;

25 [13] El compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo según uno cualquiera de [1] a [7], para uso como un inhibidor de CX3CR1;

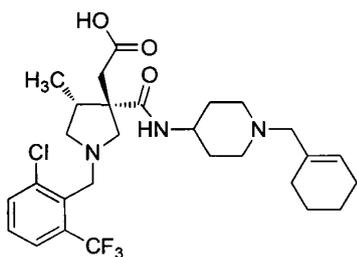
[14] Un medicamento que comprende el compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo según uno cualquiera de [1] a [7];

30 [15] El uso de un compuesto según [1], en el que se ha introducido, como sonda química para la identificación de proteínas marcadoras, cualquiera de (1) un grupo marcador de proteína, (2) un ligador escindible, (3) un grupo marcador de captación, (4) un marcador detectable, y (5) un grupo unido a un soporte de fase sólida.

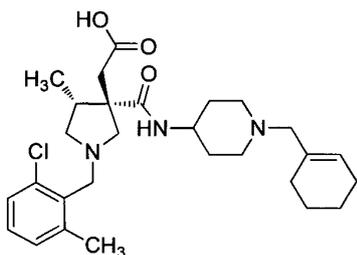
16. El compuesto según [1], que es ácido 2-[(3S,4R)-1-[(2,6-diclorofenil)metil]-3-[[1-[(4,4-difluorociclohexil)metil]piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;



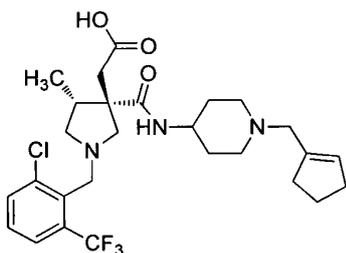
17. El compuesto según [1], que es ácido 2-[(3S,4R)-1-[[2-cloro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-3-[[1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;



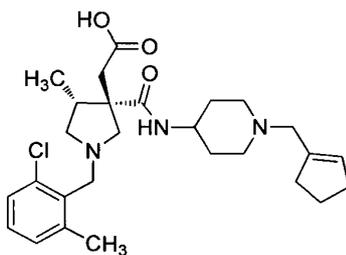
18. El compuesto según [1], que es ácido 2-[(3S,4R)-1-[(2-cloro-6-metilfenil)metil]-3-[[1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



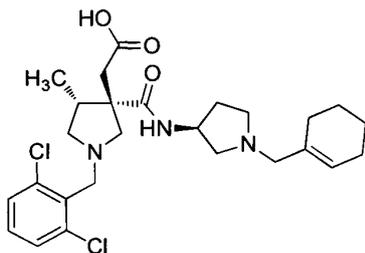
5 19. El compuesto según [1], que es ácido 2-[(3S,4R)-1-[(2-cloro-6-(trifluorometil)fenil)metil]-3-[[1-(ciclopent-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo



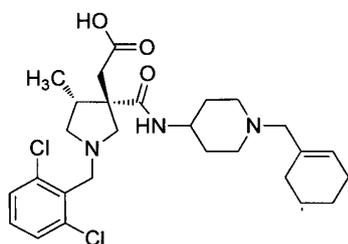
10 20. El compuesto según [1], que es ácido 2-[(3S,4R)-1-[(2-cloro-6-metilfenil)metil]-3-[[1-(ciclopent-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



21. El compuesto según [1], que es ácido 2-[(3S,4R)-3-[[1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)pirrolidin-3-il]carbamoil]-1-[(2,6-diclorofenil)metil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



22. El compuesto según [1], que es ácido 2-[(3S,4R)-3-[[1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-1-[(2,6-diclorofenil)metil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



5 **EFFECTOS VENTAJOSOS DE LA INVENCION**

Según los resultados de los ensayos descritos más abajo, los compuestos según la presente invención tienen un efecto inhibitor en la ruta de fractalcina-CX3CR1. Por lo tanto, los compuestos según la presente invención tienen disponibilidad como agentes terapéuticos para enfermedad inflamatoria del intestino.

BREVE DESCRIPCION DE LOS DIBUJOS

10 La FIG. 1 muestra una gráfica que muestra los resultados del Ejemplo 2 de Ensayo para los compuestos de los Ejemplos 3, 6 y 11;

La FIG. 2 muestra una gráfica que muestra los resultados del Ejemplo 2 de Ensayo para los compuestos de los Ejemplos 2, 7 y 8;

15 La FIG. 3 muestra una gráfica que muestra los resultados del Ejemplo 2 de Ensayo para los compuestos de los Ejemplos 1, 9 y 10; y

La FIG. 4 muestra una gráfica que muestra los resultados del Ejemplo 2 de Ensayo para los compuestos de los Ejemplos 12, 13 y 14.

DESCRIPCION DE LAS REALIZACIONES

La presente invención se describirá con más detalle a continuación.

20 En la presente memoria descriptiva, la presente invención no está limitada a una forma cristalina particular, sino que puede incluir una cualquiera de las formas cristalinas o sus mezclas, aunque pueden existir polimorfos cristalinos. La presente invención también incluye formas amorfas, y los compuestos según la presente invención incluyen anhídridos, hidratos y solvatos.

25 En adelante se describirán los significados de términos, símbolos y similares descritos en la presente memoria descriptiva, y se describirá con detalle la presente invención.

El "grupo alquilo de C₁₋₆", en la presente memoria descriptiva, significa un grupo alquilo lineal o ramificado que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, y los ejemplos incluyen un grupo metilo, un grupo etilo, un grupo 1-propilo, un grupo 2-propilo, un grupo 2-metil-1-propilo, un grupo 2-metil-2-propilo, un grupo 1-butilo, un grupo 2-butilo, un grupo 1-pentilo, un grupo 2-pentilo, un grupo 3-pentilo, un grupo 1-hexilo, un grupo 2-hexilo y un grupo 3-hexilo.

30 El "grupo cicloalquilo de C₃₋₈", en la presente memoria descriptiva, significa un grupo de hidrocarburo alifático saturado monocíclico que tiene de 3 a 8 átomos de carbono, y los ejemplos incluyen un grupo ciclopropilo, un grupo ciclobutilo, un grupo ciclopentilo, un grupo ciclohexilo, un grupo cicloheptilo y un grupo ciclooctilo.

35 El "grupo cicloalqueno de C₃₋₈", en la presente memoria descriptiva, significa un grupo de hidrocarburo alifático monocíclico que tiene de 3 a 8 átomos de carbono y que contiene de 1 a 4 dobles enlaces en el anillo, y los ejemplos incluyen un grupo ciclopropeno, un grupo ciclobuteno, un grupo ciclopenteno, un grupo ciclohexeno, un grupo ciclohepteno y un grupo cicloocteno.

El "átomo de halógeno", en la presente memoria descriptiva, significa un átomo de flúor, un átomo de cloro, un átomo de bromo o un átomo de yodo.

40 R en el compuesto representado por la fórmula (1) representa un grupo alquilo de C₁₋₆ no sustituido o que tiene de 1 a 3 sustituyentes seleccionados de átomos de halógeno, un grupo cicloalquilo de C₃₋₈ no sustituido o que tiene de 1 a 3 sustituyentes seleccionados de átomos de halógeno, o un grupo cicloalqueno de C₃₋₈ no sustituido o que tiene

de 1 a 3 sustituyentes seleccionados de átomos de halógeno. Preferiblemente, R representa un grupo fluorobutilo, un grupo pentilo, un grupo ciclohexilo, un grupo difluorociclohexilo, un grupo ciclopentenilo o un grupo ciclohexenilo.

X en el compuesto representado por la fórmula (1) representa un grupo alquilo de C₁₋₆. Preferiblemente, X representa un grupo metilo.

- 5 Y y Z en el compuesto representado por la fórmula (1) son iguales o diferentes entre sí, y cada uno representa un átomo de halógeno o un grupo alquilo de C₁₋₆ no sustituido o que tiene de 1 a 3 sustituyentes seleccionados del Grupo B de Sustituyentes. Preferiblemente, Y representa un átomo de cloro. Preferiblemente, Z representa un átomo de cloro, un grupo metilo, un grupo difluorometilo o un grupo trifluorometilo.

n en el compuesto representado por la fórmula (1) representa 0 ó 1, y preferiblemente representa 1.

- 10 El Átomo de halógeno es preferiblemente un átomo de flúor, un átomo de cloro o un átomo de bromo, más preferiblemente un átomo de flúor.

La "sal farmacéuticamente aceptable", en la presente memoria descriptiva, no está particularmente limitada en tanto que forme una sal con el compuesto representado por la fórmula (1) y sea farmacéuticamente aceptable, y los ejemplos incluyen sales de ácidos inorgánicos, sales de ácidos orgánicos, sales de bases inorgánicas, sales de bases orgánicas, y sales de aminoácidos ácidos o básicos.

- 15 Los ejemplos preferidos de sales de ácidos inorgánicos incluyen hidroclozuros, hidrobromuros, sulfatos, nitratos y fosfatos, y los ejemplos preferidos de sales de ácidos orgánicos incluyen acetatos, succinatos, fumaratos, maleatos, tartratos, citratos, lactatos, estearatos, benzoatos, mandelatos, metanosulfonatos, etanosulfonatos, p-toluenosulfonatos y bencenosulfonatos.

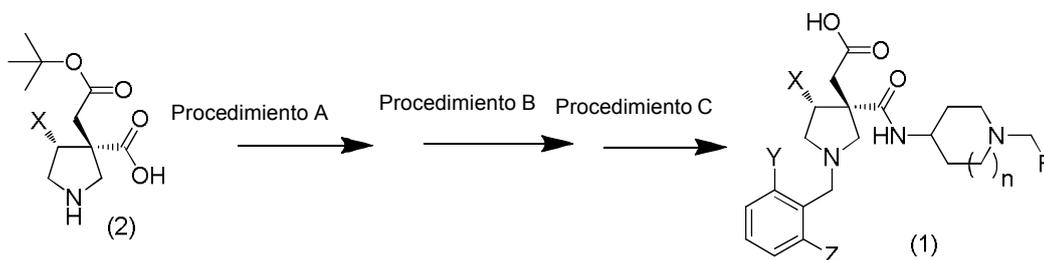
- 20 Los ejemplos preferidos de sales de bases inorgánicas incluyen sales de metales alcalinos tales como sales de sodio y sales de potasio, sales de metales alcalino-térreos tales como sales de calcio y sales de magnesio, sales de aluminio y sales de amonio, y los ejemplos preferidos de sales de bases orgánicas incluyen sales de dietilamina, sales de dietanolamina, sales de meglumina y sales de N,N'-dibencilendiamina.

- 25 Los ejemplos preferidos de sales de aminoácidos ácidos incluyen aspartatos y glutamatos, y los ejemplos preferidos de sales de aminoácidos básicos incluyen sales de arginina, sales de lisina y sales de ornitina.

El compuesto representado mediante la fórmula (1) se puede producir mediante el método descrito más abajo, y también se puede producir mediante una mejora del método descrito más abajo por aquellos expertos en la técnica basándose en el conocimiento normal. Sin embargo, el método para producir el compuesto representado mediante la fórmula (1) no está limitado a estos métodos.

- 30 El compuesto representado mediante la fórmula (1) (en lo sucesivo también denominado Compuesto (1)) se puede producir mediante el Procedimiento A, Procedimiento B y Procedimiento C descritos más abajo con detalle, usando un intermedio representado mediante la fórmula (2) como material de partida.

[Fórmula Química 2]

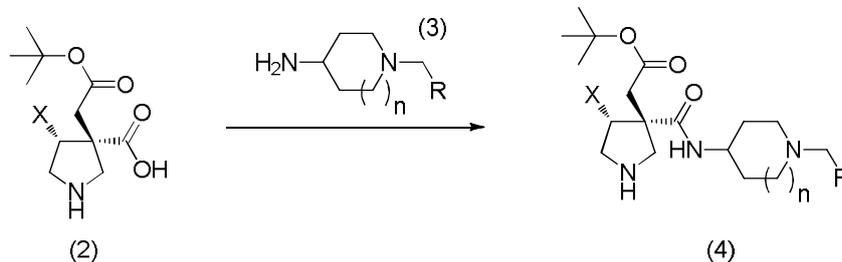


- 35 [En el esquema, R, X, Y, Z y n son como se definen anteriormente].

La secuencia de los procedimientos respectivos se puede cambiar según sea apropiado basándose en el conocimiento normal de aquellos expertos en la técnica. A cada procedimiento le pueden seguir métodos de purificación conocidos por los expertos en la técnica, o puede continuar al siguiente procedimiento sin aislamiento ni purificación.

- 40 (Procedimiento A) Amidación

[Fórmula Química 3]

Procedimiento A

[en el que X, R y n son como se definen anteriormente].

- 5 Este procedimiento es un procedimiento para producir el Compuesto (4) sometiendo al grupo carboxilo del Compuesto (2) y al grupo amino del Compuesto (3) a una condensación con deshidratación en un disolvente inerte en presencia de un agente de condensación y una base para formar un enlace de amida.

El disolvente usado no está limitado particularmente en tanto que disuelva el material de partida en cierto grado y no inhiba la reacción, y los ejemplos incluyen amidas tales como N,N-dimetilformamida, N,N-dimetilacetamida y 1-metilpirrolidinona, éteres tales como tetrahidrofurano, y sulfóxidos tales como dimetilsulfóxido, prefiriéndose N,N-dimetilformamida.

- 10 Los ejemplos del agente de condensación usado incluyen hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxitris(pirrolidino)fosfonio (en lo sucesivo denominado PyBOP), cloruro bis(2-oxo-3-oxazolidinil)fosfínico (en lo sucesivo denominado BOP-Cl), hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxitris(dimetilamino)fosfonio, hexafluorofosfato de 2-(benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio y cianofosfato de dietilo, prefiriéndose PyBOP o BOP-Cl, y siendo el más preferido PyBOP.

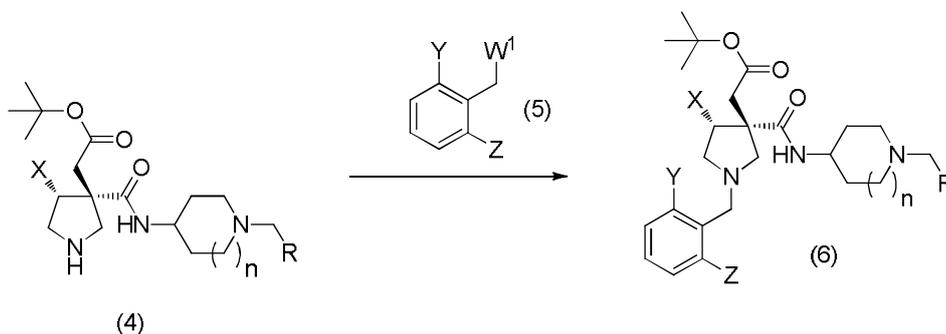
- 15 Los ejemplos de la base usada incluyen trietilamina y diisopropiletilamina, prefiriéndose trietilamina.

La temperatura de reacción varía dependiendo del material de partida, del disolvente, del agente de condensación y de la base, pero habitualmente es de -20°C a 100°C, preferiblemente de 0°C a 60°C.

El tiempo de reacción varía dependiendo del material de partida, del disolvente, del agente de condensación y de la base, pero es habitualmente de 30 minutos a cinco días, preferiblemente de una hora a tres días.

- 20 (Procedimiento B) Arilmetilación

[Fórmula Química 4]

Procedimiento B

[en el que R, X, Y, Z y n son como se definen anteriormente, y W¹ representa un átomo de halógeno, un grupo alquilsulfonilo o un grupo arilsulfonilo].

- 25 Este procedimiento es un procedimiento para producir el Compuesto (6) haciendo reaccionar el Compuesto (4) con el Compuesto (5) en un disolvente inerte en presencia de una base.

El disolvente usado no está particularmente limitado en tanto que disuelva en cierto grado el material de partida y no inhiba la reacción, y los ejemplos incluyen amidas tales como N,N-dimetilformamida, N,N-dimetilacetamida y 1-metilpirrolidinona, y sulfóxidos tales como dimetilsulfóxido, prefiriéndose N,N-dimetilformamida.

- 5 Los ejemplos de la base usada incluyen bases inorgánicas tales como carbonato de sodio y carbonato de potasio, prefiriéndose carbonato de potasio.

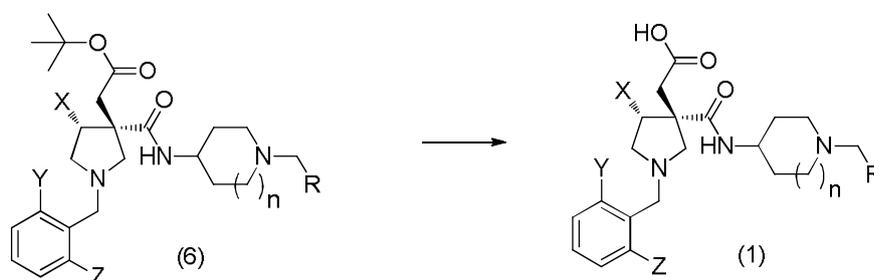
La temperatura de reacción varía dependiendo del material de partida, del disolvente y de la base, pero habitualmente es de -20°C a 100°C, preferiblemente de 0°C a 60°C.

El tiempo de reacción varía dependiendo del material de partida, del disolvente y de la base, pero habitualmente es de 30 minutos a cinco días, preferiblemente de 1 a 24 horas.

- 10 (Procedimiento C) Eliminación de grupo terc-butilo

[Fórmula Química 5]

Procedimiento C



[en el que R, X, Y, Z y n son como se definen anteriormente].

- 15 Este procedimiento es un procedimiento para producir el compuesto (1) haciendo reaccionar el compuesto (6) con un ácido en ausencia de un disolvente o en un disolvente inerte.

El disolvente usado no está particularmente limitado en tanto que disuelva en cierto grado el material de partida y no inhiba la reacción, y los ejemplos incluyen hidrocarburos halogenados tales como diclorometano y cloroformo, tolueno, dioxano, agua, y un disolvente mixto de dioxano y agua, prefiriéndose diclorometano.

- 20 Los ejemplos del ácido usado incluyen ácidos carboxílicos tales como ácido trifluoroacético, y ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, prefiriéndose ácido trifluoroacético.

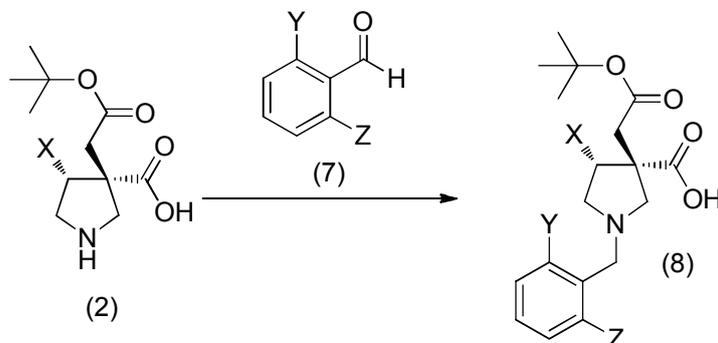
La temperatura de reacción varía dependiendo del material de partida, del disolvente y del ácido, pero habitualmente es de -20°C a 100°C, preferiblemente de 0°C a 40°C.

El tiempo de reacción varía dependiendo del material de partida, del disolvente y del ácido, pero habitualmente es de 30 minutos a un día, preferiblemente de 1 a 12 horas.

- 25 Como otro método para producir el compuesto (1), también se puede usar un método de producción a través del Procedimiento D y del Procedimiento F.

(Procedimiento D) Aminación reductora

[Fórmula Química 6]

Procedimiento D

[en el que X, Y y Z son como se definen anteriormente].

Este procedimiento es un procedimiento para producir el compuesto (8) haciendo reaccionar el compuesto (2) con el compuesto (7) y un agente reductor en un disolvente inerte en presencia o ausencia de un ácido.

- 5 El disolvente usado no está particularmente limitado en tanto que disuelva en cierto grado el material de partida y no inhiba la reacción, y los ejemplos incluyen éteres tales como tetrahidrofurano, y alcoholes tales como metanol y etanol, prefiriéndose tetrahidrofurano o metanol.

Los ejemplos del agente reductor usado incluyen compuestos de borohidruro tales como triacetoxiborohidruro de sodio, cianoborohidruro de sodio y borohidruro de sodio, prefiriéndose triacetoxiborohidruro de sodio.

- 10 El ácido se puede usar o no en este procedimiento, y si se usa, el ácido usado no está particularmente limitado en tanto que no inhiba la reacción, y es preferiblemente ácido acético.

La temperatura de reacción varía dependiendo del material de partida, del disolvente, del agente reductor y del ácido, pero habitualmente es de -20°C a 100°C, preferiblemente de 0°C a 60°C.

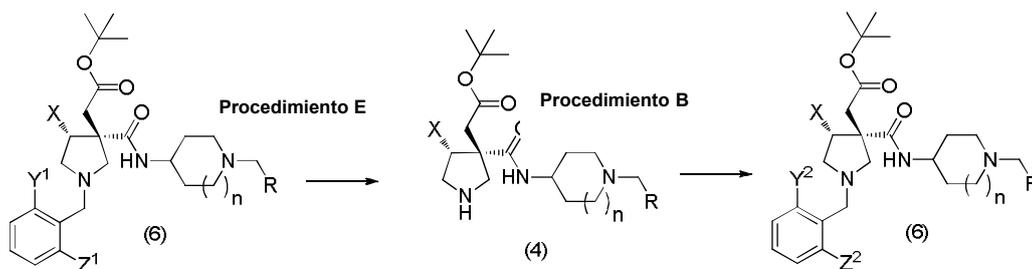
- 15 El tiempo de reacción varía dependiendo del material de partida, del disolvente, del agente reductor y del ácido, pero habitualmente es de 30 minutos a cinco días, preferiblemente de 1 a 48 horas.

Incluso cuando el Compuesto (2) que es el material de partida forma una sal, se puede permitir que la reacción transcurra añadiendo una amina orgánica tal como trietilamina en una cantidad de uno o más equivalentes a la cantidad del ácido carboxílico que forma la sal.

(Procedimiento E) Hidrogenación

- 20 El Compuesto (4) en el que se elimina el grupo arilmetilo se puede obtener sometiendo al Compuesto (6) obtenido en el Procedimiento B anterior a una reacción de hidrogenación. El Compuesto (4) se puede convertir adicionalmente mediante el Procedimiento B en el Compuesto (6) al que se añade un grupo arilmetilo que tiene un sustituyente diferente.

[Fórmula Química 7]



- 25 [en el que R, Z y n son como se definen anteriormente, Y¹ e Y² tienen el mismo significado como en Y anteriormente, y Z¹ y Z² tienen el mismo significado como en Z anteriormente].

Este procedimiento es un procedimiento para producir el compuesto (4) haciendo reaccionar el compuesto (6) con hidrógeno en un disolvente inerte en presencia de un catalizador de reducción para eliminar el grupo arilmetilo.

5 El disolvente usado no está particularmente limitado en tanto que disuelva en cierto grado el material de partida y no inhiba la reacción, y los ejemplos incluyen alcoholes tales como metanol y etanol, éteres tales como tetrahidrofurano, dioxano y dimetoxietano, y ésteres de ácidos orgánicos tales como acetato de etilo, siendo preferidos éteres, alcoholes, ésteres de ácidos orgánicos o disolventes mixtos de los mismos, y siendo muy preferido metanol o etanol.

Los ejemplos del catalizador de reducción usado incluyen Pd/C, hidróxido de paladio, níquel Raney, óxido de platino y negro de platino, siendo preferido Pd/C o hidróxido de paladio.

10 La temperatura de la reacción varía dependiendo del material de partida y del disolvente, pero habitualmente es de 0°C a 70°C, preferiblemente de 10°C a 50°C.

El tiempo de reacción varía dependiendo del material de partida, del disolvente, y de la temperatura de reacción, pero habitualmente es de 30 minutos a cinco días, preferiblemente de uno a tres días.

La presión del hidrógeno durante la reacción en el caso de usar el catalizador de reducción es habitualmente de 0.5 a 10 atm, preferiblemente de 1 a 5 atm.

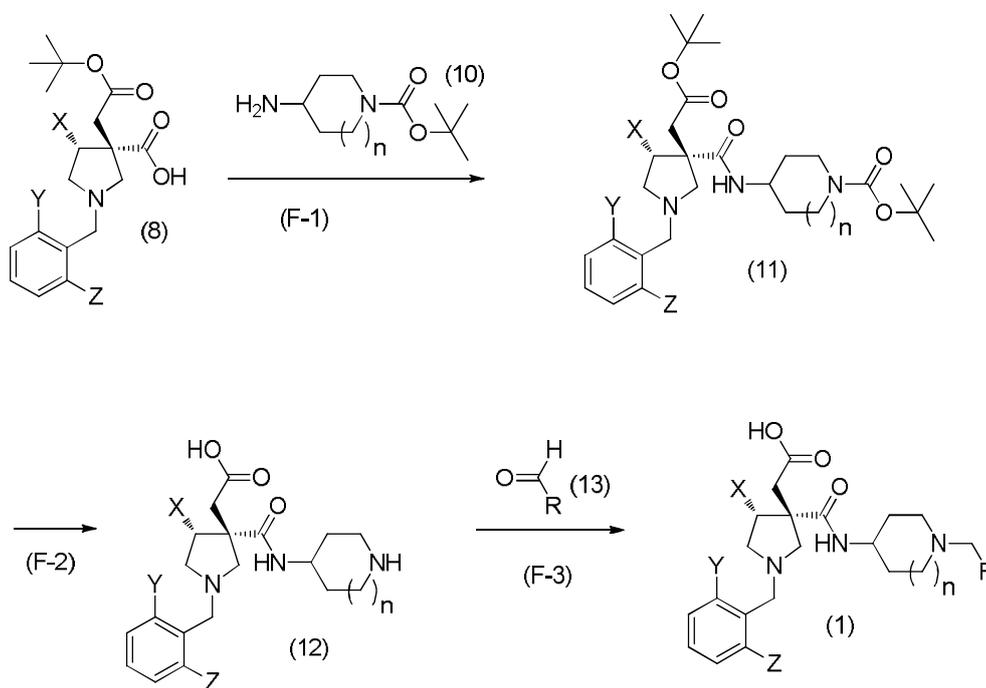
15 Típicamente, el compuesto obtenido en este procedimiento se puede usar en el siguiente procedimiento sólo separando mediante filtración el catalizador.

(Procedimiento F)

El Compuesto (1) también se puede obtener mediante el Procedimiento F.

[Fórmula Química 8]

Procedimiento F



20

[en el que R, X, Y, Z y n son como se definen anteriormente].

(Procedimiento F-1) Amidación

25 Este procedimiento es un procedimiento para producir el compuesto (11) sometiendo al grupo carboxilo del compuesto (8) y al grupo amino del Compuesto (10) a una condensación con deshidratación, y se puede llevar a cabo mediante un método similar a aquel del Procedimiento A.

(Procedimiento F-2) Eliminación de grupo terc-butilo y grupo terc-butiloxycarbonilo

Este procedimiento es un procedimiento para producir el compuesto (12) haciendo reaccionar el compuesto (11) con un ácido, y se puede llevar a cabo mediante un método similar a aquel del Procedimiento C.

(Procedimiento F-3) Aminación reductora

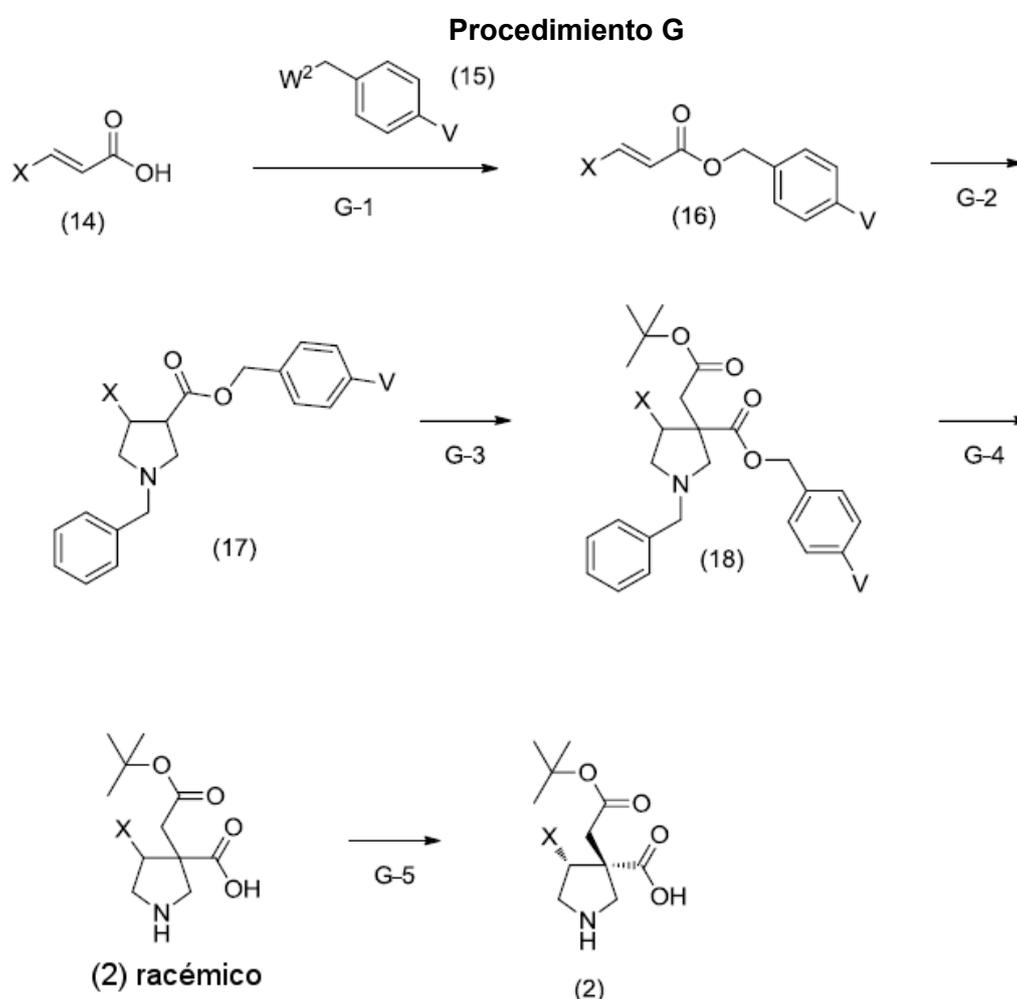
- 5 Este procedimiento es un procedimiento para producir el compuesto (1) haciendo reaccionar el compuesto (12) con un compuesto aldehídico (13) en presencia de un agente reductor, y se puede llevar a cabo mediante un método similar a aquel del Procedimiento D.

Los Compuestos (10) y (13) pueden estar disponibles como compuestos comercialmente disponibles, o se pueden producir fácilmente a partir de compuestos comercialmente disponibles mediante métodos llevados a cabo habitualmente por aquellos expertos en la técnica.

- 10 (Procedimiento G)

El Compuesto (2) también se puede producir mediante el Procedimiento G descrito a continuación.

[Fórmula Química 9]



- 15 [en el que X es como se define anteriormente, V representa un átomo de hidrógeno o un grupo metoxi, y W^2 representa un átomo de halógeno].

(Procedimiento G-1) Esterificación

- 20 Este procedimiento es un procedimiento para producir el compuesto (16) haciendo reaccionar el compuesto (14) con el compuesto (15) en un disolvente inerte en presencia de una base. Este procedimiento se puede llevar a cabo según el Procedimiento B.

(Procedimiento G-2) Cicloadición

Este procedimiento es un procedimiento para producir el compuesto (17) haciendo reaccionar el compuesto (16) con N-(metoximetil)-N-(trimetilsililmetil)bencilamina en un disolvente inerte en presencia de un ácido.

5 El disolvente usado no está particularmente limitado en tanto que disuelva en cierto grado el material de partida y no inhiba la reacción, y los ejemplos incluyen éteres tales como tetrahidrofurano, hidrocarburos halogenados tales como diclorometano y cloroformo, e hidrocarburos aromáticos tales como benceno y tolueno, siendo preferidos diclorometano y tolueno y un disolvente mixto de los mismos.

El ácido usado puede ser cualquier ácido usado habitualmente por aquellos expertos en la técnica, y es preferiblemente ácido trifluoroacético.

10 La temperatura de reacción varía dependiendo del material de partida, del disolvente, del agente reductor y del ácido, pero habitualmente es de -20°C a 60°C, preferiblemente de 10°C a 40°C.

El tiempo de reacción varía dependiendo del material de partida, del disolvente, del agente reductor y del ácido, pero habitualmente es de 30 minutos a cinco días, preferiblemente de 1 a 24 horas.

15 La reacción puede ser exotérmica; es preferible añadir N-(metoximetil)-N-(trimetilsililmetil)bencilamina gota a gota mientras se tiene cuidado con respecto a la generación de calor, después de que se mezclan el Compuesto (16), el disolvente y el ácido.

(Procedimiento G-3) Alquilación

Este procedimiento es un procedimiento para producir el compuesto (18) haciendo que una base actúe sobre el Compuesto (17) en un disolvente inerte, y haciéndolo reaccionar entonces con bromoacetato de terc-butilo.

20 El disolvente usado no está particularmente limitado en tanto que disuelva en cierto grado el material de partida y no inhiba la reacción, y los ejemplos incluyen éteres tales como tetrahidrofurano y éter dietílico, hidrocarburos alifáticos tales como hexano, hidrocarburos aromáticos tales como tolueno, y disolventes mixtos de los mismos, prefiriéndose tetrahidrofurano y un disolvente mixto de tetrahidrofurano y hexano.

25 Los ejemplos preferidos de la base usada incluyen sales de litio de aminas orgánicas tales como diisopropilamido de litio y bis(trimetilsilil)amido de litio, siendo más preferidos diisopropilamido de litio y bis(trimetilsilil)amido de litio.

La temperatura de reacción varía dependiendo del material de partida, del disolvente y de la base, pero habitualmente es de -100°C a 50°C, preferiblemente de -80°C a -40°C, lo más preferible de -80°C a -70°C.

30 El tiempo de reacción varía dependiendo del material de partida, del disolvente y de la base, pero habitualmente es de 30 minutos a cinco días, preferiblemente de 1 a 24 horas, lo más preferible de 2 a 5 horas.

(Procedimiento G-4) Reacción de hidrogenación

Este procedimiento es un procedimiento para hacer reaccionar el compuesto (18) con hidrógeno en un disolvente inerte en presencia de un catalizador de reducción, para eliminar el grupo bencilo.

Este procedimiento se puede llevar a cabo según el Procedimiento E anterior.

35 (Procedimiento G-5) Resolución Quiral

Este procedimiento es un procedimiento para obtener Compuesto (2) sometiendo un racemato del compuesto (2) a resolución quiral.

40 El disolvente usado para la fase móvil o carga de la muestra en la resolución no está particularmente limitado en tanto que disuelva en cierto grado el material de partida y no tenga efectos adversos sobre las columnas o las muestras, y los ejemplos incluyen agua, disoluciones salinas acuosas, alcoholes tales como metanol, etanol y 2-propanol, hexano, acetonitrilo, tetrahidrofurano, ácido trifluoroacético, dietilamina, o disolventes mixtos de los mismos, siendo preferido acetonitrilo, etanol, o un disolvente mixto de etanol y hexano.

45 Los ejemplos de la columna usada para la resolución incluyen diversas columnas comercialmente disponibles para resolución óptica, prefiriéndose CHIRALPAK AD-H, CHIRALPAK IA y CHIRALCEL OZ-H, fabricadas por Daicel Chemical Industries, Ltd.

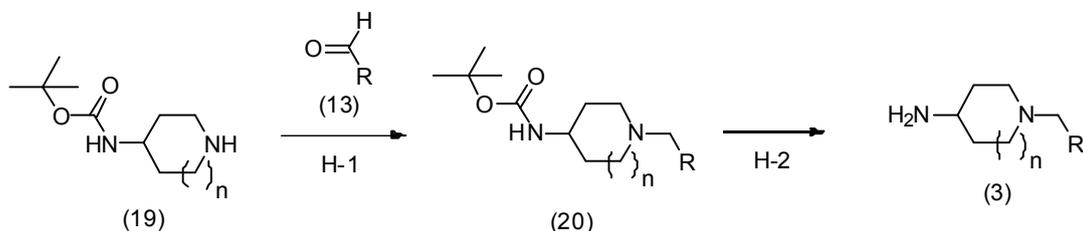
La temperatura de la columna durante la resolución es preferiblemente de 10°C a 45°C.

(Procedimiento H)

El Compuesto (3) usado en el Procedimiento A o similar se puede producir también mediante el Procedimiento H descrito a continuación.

[Fórmula Química 10]

Procedimiento H



5 [en el que R y n son como se definen anteriormente]

(Procedimiento H-1) Aminación reductora

Este procedimiento es un procedimiento para producir el compuesto (20) haciendo reaccionar el compuesto (19) con el compuesto (13) en presencia de un agente reductor en un disolvente inerte en presencia o ausencia de un ácido, y se puede llevar a cabo según el Procedimiento D.

10 (Procedimiento H-2) Eliminación del grupo terc-butiloxicarbonilo

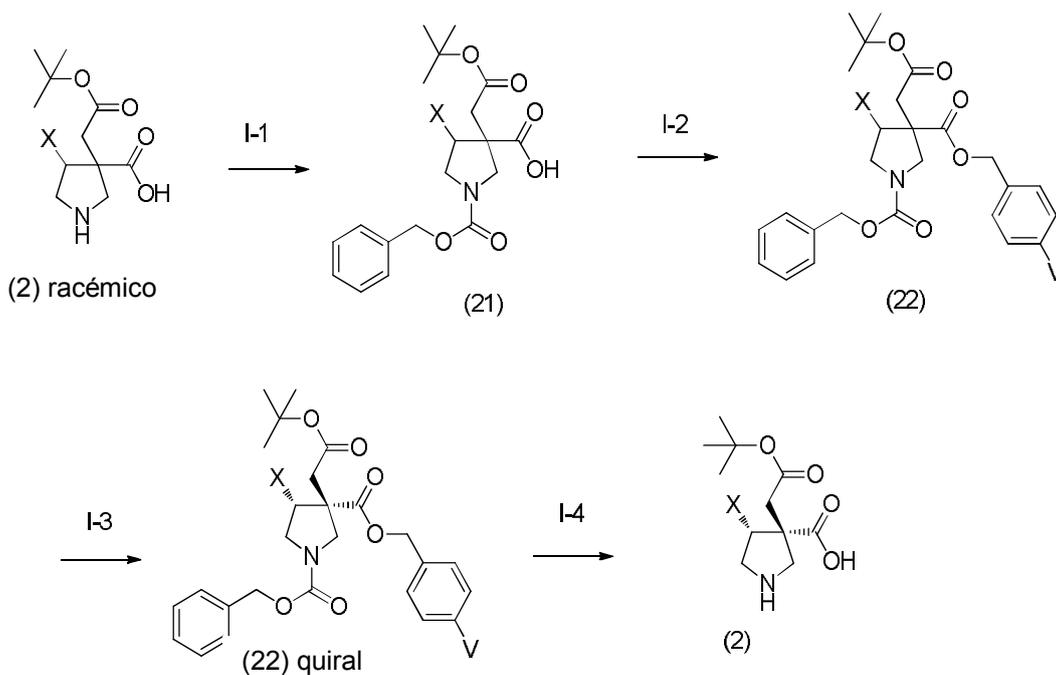
Este procedimiento es un procedimiento para producir el compuesto (3) haciendo reaccionar el compuesto (20) con un ácido en ausencia de un disolvente o en un disolvente inerte para eliminar el grupo terc-butiloxicarbonilo, y se puede llevar a cabo según el Procedimiento C.

(Procedimiento I)

15 El Compuesto (2) también se puede producir mediante el Procedimiento I descrito a continuación usando un racemato del Compuesto (2) como material de partida.

[Fórmula Química 11]

Procedimiento I



[en el que X y V son como se definen anteriormente].

(Procedimiento I-1) Introducción de grupo benciloxicarbonilo

Este procedimiento es un procedimiento que hace reaccionar un racemato del Compuesto (2) con cloroformiato de bencilo en un disolvente inerte en presencia de una base, para introducir un grupo benciloxicarbonilo.

5 El disolvente usado no está particularmente limitado en tanto que disuelva en cierto grado el material de partida y no inhiba la reacción, y los ejemplos incluyen éteres tales como tetrahidrofurano y 1,4-dioxano, agua, N,N-dimetilformamida, diclorometano, acetona y disolventes mixtos de los mismos, prefiriéndose un disolvente mixto de agua y acetona.

10 Los ejemplos de la base usada incluyen bases inorgánicas tales como hidróxido sódico, hidróxido potásico, bicarbonato de sodio, carbonato de sodio y carbonato de potasio, y aminas orgánicas tales como trietilamina y diisopropiletamina, prefiriéndose hidróxido de sodio.

La temperatura de la reacción varía dependiendo del material de partida, del disolvente y de la base, pero habitualmente es de -30°C a 20°C, preferiblemente de -10°C a 15°C.

El tiempo de reacción varía dependiendo del material de partida, del disolvente y de la base, pero habitualmente es de 30 minutos a cinco días, preferiblemente de 1 a 24 horas.

15 (Procedimiento I-2) Reacción de esterificación

Este procedimiento es un procedimiento para producir el compuesto (22) haciendo reaccionar el compuesto (21) con haluro de bencilo en un disolvente inerte en presencia de una base. Este procedimiento se puede llevar a cabo según el Procedimiento B.

(Procedimiento I-3) Resolución quiral

20 Este procedimiento es un procedimiento para obtener una forma quiral del Compuesto (22) sometiendo al Compuesto (22) a resolución quiral. Este procedimiento se puede llevar a cabo según el Procedimiento G-5.

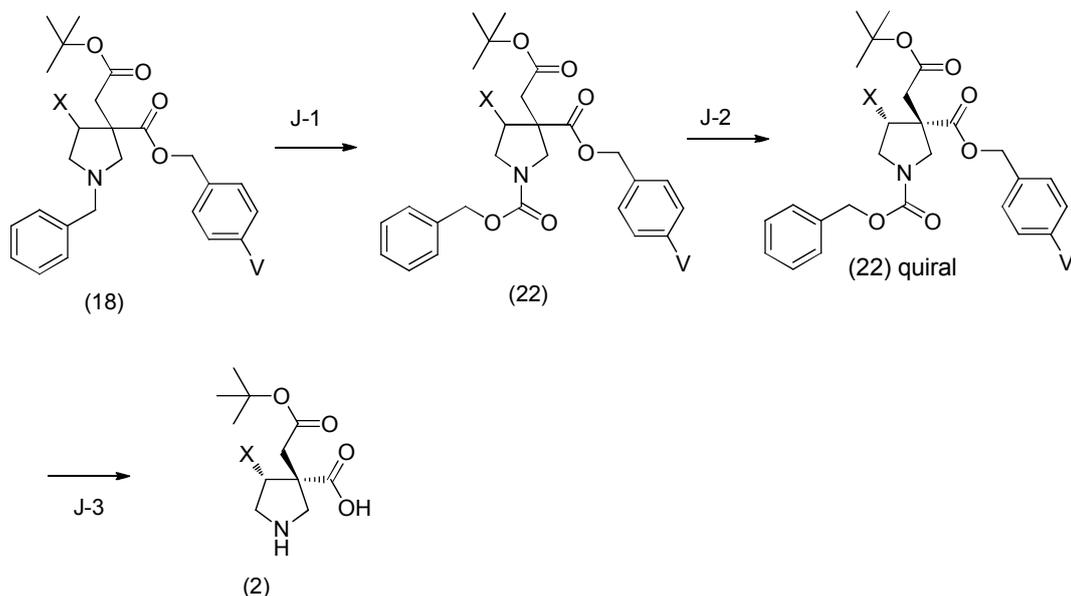
(Procedimiento I-4) Reacción de hidrogenación

25 Este procedimiento es un procedimiento para obtener el Compuesto (2) haciendo reaccionar la forma quiral del Compuesto (22) con hidrógeno en un disolvente inerte en presencia de un catalizador de reducción. Este procedimiento se puede llevar a cabo según el Procedimiento E.

(Procedimiento J)

El Compuesto (2) también se puede producir mediante el Procedimiento J descrito a continuación, usando como material de partida el Compuesto (18).

[Fórmula Química 12]

Procedimiento J

[en el que X y V tienen el mismo significado como anteriormente]

(Procedimiento J-1) Introducción de grupo benciloxycarbonilo

5 Este procedimiento es un procedimiento para obtener el Compuesto (22) haciendo reaccionar el Compuesto (18) con cloroformiato de bencilo en un disolvente inerte, para sustituir el grupo bencilo por un grupo benciloxycarbonilo.

El disolvente usado no está particularmente limitado en tanto que disuelva en cierto grado el material de partida y no inhiba la reacción, y los ejemplos incluyen tetrahidrofurano, tolueno, diclorometano, cloroformo y disolventes mixtos de los mismos, prefiriéndose diclorometano.

10 La temperatura de la reacción varía dependiendo del material de partida y del disolvente, pero habitualmente es de -20°C a 60°C, preferiblemente de 0°C a 40°C.

El tiempo de reacción varía dependiendo del material de partida y del disolvente, pero habitualmente es de 30 minutos a cinco días, preferiblemente de 1 a 24 horas.

(Procedimiento J-2) Resolución quiral

15 Este procedimiento es un procedimiento para obtener una forma quiral del Compuesto (22) sometiendo al Compuesto (22) a resolución quiral. Este procedimiento se puede llevar a cabo según el Procedimiento G-5.

(Procedimiento J-3) Reacción de hidrogenación

Este procedimiento es un procedimiento para obtener el Compuesto (2) haciendo reaccionar la forma quiral del Compuesto (22) con hidrógeno en un disolvente inerte en presencia de un catalizador de reducción. Este procedimiento se puede llevar a cabo según el Procedimiento E.

20 Después de terminar la reacción en cada procedimiento de cada método descrito anteriormente, el compuesto diana en cada procedimiento se puede recoger de la mezcla de reacción según un método convencional.

25 Por ejemplo, cuando toda la mezcla de reacción es líquida, la mezcla de reacción se enfría hasta la temperatura ambiente o se enfría con hielo según se desee, se neutraliza con un ácido, álcali, agente oxidante o agente reductor según sea apropiado, se añade un disolvente orgánico inmiscible con agua y no reactivo con el compuesto diana, tal como acetato de etilo, y se separa la capa que contiene el compuesto diana. A continuación, se añade un disolvente inmiscible con la capa resultante y no reactivo con el compuesto diana, la capa que contiene el compuesto diana se lava, y se separa la capa. Además, cuando la capa es una capa orgánica, el compuesto diana se puede recoger secando con un agente secante tal como sulfato de magnesio anhidro o sulfato de sodio anhidro, y separando el disolvente mediante destilación. Cuando la capa es una capa acuosa, el compuesto diana se puede recoger desmineralizando eléctricamente y liofilizando después la capa.

30

Además, cuando toda la mezcla de reacción es un líquido y si es posible, el compuesto diana se puede recoger sólo mediante separación por destilación de las sustancias distintas del compuesto diana (tal como un disolvente o un reactivo) a presión normal o a presión reducida.

5 Además, cuando solamente el compuesto diana precipita como un sólido, o cuando toda la mezcla de reacción descrita anteriormente es un líquido y sólo el compuesto diana precipita durante la recogida, el compuesto diana se puede recoger adicionalmente recogiendo el compuesto diana primeramente mediante filtración, lavando el compuesto diana recogido mediante filtración con un disolvente orgánico o inorgánico apropiado, y secando, de tal manera que el licor madre se trata de manera similar al caso cuando toda la mezcla de reacción descrita anteriormente es un líquido.

10 Todavía adicionalmente, cuando sólo el reactivo o catalizador está presente como un sólido, o cuando toda la mezcla de reacción descrita anteriormente es un líquido y sólo el reactivo o catalizador precipita como un sólido durante la recogida, y el compuesto diana está disuelto en la disolución, el compuesto diana se puede recoger separando primeramente mediante filtración el reactivo o catalizador, lavando el reactivo o catalizador separado mediante filtración con un disolvente orgánico o inorgánico apropiado, combinando los lavados resultantes con el
15 licor madre, y tratando la mezcla resultante de manera similar al caso cuando toda la mezcla de reacción descrita anteriormente es un líquido.

En particular, cuando las sustancias distintas del compuesto diana que están contenidas en la mezcla de reacción no inhiben la reacción en la siguiente etapa, la mezcla de reacción también se puede usar en la siguiente etapa como tal sin aislar particularmente el compuesto diana.

20 A fin de mejorar la pureza del compuesto diana recogido mediante el método anterior, se puede llevar a cabo según sea apropiado la recristalización, diversos métodos cromatográficos y la destilación.

Típicamente, cuando el compuesto diana recogido es un sólido, la pureza del compuesto diana se puede mejorar mediante recristalización. En la recristalización, se puede usar un único disolvente o una mezcla de una pluralidad de disolventes no reactivos con el compuesto diana. Específicamente, el compuesto diana se disuelve en primer
25 lugar en uno o más disolventes que no son reactivos con el compuesto diana a temperatura ambiente o bajo calor. La mezcla resultante se enfría con agua con hielo o similar, o se agita o se deja reposar a temperatura ambiente, de manera que el compuesto diana se puede recristalizar a partir de la mezcla.

La pureza del compuesto diana recogido se puede mejorar mediante diversos métodos cromatográficos. Generalmente, es posible usar geles de sílice débilmente ácidos, tales como gel de sílice 60 fabricado por Merck
30 KGaA (malla 70-230 o malla 340-400) y BW-300 fabricado por Fuji Silysia Chemical Ltd. (malla 300). Cuando el compuesto diana es básico y se adsorbe sobre los geles de sílice anteriores demasiado fuertemente, también es posible usar geles de sílice de NH, tales como gel de sílice revestido con propilamina fabricado por Fuji Silysia Chemical Ltd. (malla 200-350) y una columna empaquetada preparativa de presión media desechable fabricada por
35 Yamazen Corporation (Hi-Flash Amino). Cuando el compuesto diana es dipolar o se debe eluir con un disolvente más polar tal como metanol, por ejemplo, es posible usar NAM-200H o NAM-300H fabricado por NAM Laboratory, o YMC GEL ODS-A fabricado por YMC Co. Ltd. También es posible usar columnas empaquetadas preparativas de presión media desechables como se describe anteriormente que se empaquetan previamente con cargas y están fabricadas por Yamazen Corporation, Wako Pure Chemical Industries, Ltd., Biotage AB o W. R. Grace & Co. (Hi-Flash Amino). El compuesto diana cuya pureza se mejora se puede obtener eluyendo el compuesto diana con uno o
40 más disolventes no reactivos con el compuesto diana usando estos geles de sílice, y separando el disolvente o disolventes mediante destilación.

Cuando el compuesto diana recogido es un líquido, la pureza del compuesto diana también se puede mejorar mediante destilación. En la destilación, el compuesto diana se puede separar mediante destilación sometiendo al compuesto diana a presión reducida a temperatura ambiente o bajo calor.

45 Se han descrito anteriormente ejemplos representativos del método para producir Compuesto (1). Los compuestos de los materiales de partida y los diversos agentes en la producción de Compuesto (1) pueden formar sales o solvatos tales como hidratos, todos ellos variando dependiendo del material de partida, del disolvente usado, o similar, y no están particularmente limitados en tanto que no inhiban la reacción. También, el disolvente usado varía dependiendo del material de partida, del reactivo, o similar, y no está particularmente limitando en tanto que no
50 inhiba la reacción y disuelva obviamente en cierto grado el material de partida. Cuando los Compuestos (1) se obtienen como formas libres, se pueden convertir en sales que se pueden formar por los Compuestos (1) o solvatos de los compuestos o sales, mediante métodos convencionales.

Cuando los Compuestos (1) se obtienen como sales o solvatos, se pueden convertir en formas libres de los Compuestos (1) mediante métodos convencionales.

55 Los diversos isómeros obtenidos para los Compuestos (1) (tales como isómeros geométricos, isómeros ópticos, rotámeros, estereoisómeros y tautómeros) se pueden purificar y aislar usando medios de separación habituales, por

ejemplo recristalización, formación de sales diastereómeras, resolución enzimática y diversos métodos cromatográficos (tales como cromatografía de capa fina, cromatografía en columna y cromatografía de gases).

5 Los Compuestos (1) o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos se pueden formular mediante métodos convencionales, y los ejemplos de formas galénicas incluyen formulaciones orales (tales como comprimidos, gránulos, polvos, cápsulas y jarabes), inyecciones (para administración intravenosa, administración intramuscular, administración subcutánea y administración intraperitoneal) y formulaciones externas (tales como formulaciones de absorción transdérmica (tales como ungüentos y parches), preparaciones oftálmicas, preparaciones nasales y supositorios).

10 Estas formulaciones sólidas, tales como comprimidos, cápsulas, gránulos y polvos, pueden contener habitualmente de 0.001 a 99.5% en peso, preferiblemente de 0.01 a 90% en peso, o similar, de los Compuestos (1) o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

15 Cuando se fabrican formulaciones sólidas orales, los comprimidos, gránulos, polvos y cápsulas se pueden preparar añadiendo diluyentes, aglutinantes, agentes disgregantes, lubricantes, colorantes o similares, a los compuestos (1) o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos según sea necesario, y tratando mediante métodos convencionales. Los comprimidos, gránulos, polvos, cápsulas, y similares, también se pueden revestir con películas según sea necesario.

Los ejemplos de diluyentes incluyen lactosa, almidón de maíz y celulosa microcristalina, los ejemplos de aglutinantes incluyen hidroxipropilcelulosa e hidroxipropilmetilcelulosa, y los ejemplos de agentes disgregantes incluyen carboximetilcelulosa cálcica y croscarmelosa sódica.

20 Los ejemplos de lubricantes incluyen estearato de magnesio y estearato de calcio, y los ejemplos de colorantes incluyen óxido de titanio.

Los ejemplos de agentes de revestimiento de película incluyen hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa y metilcelulosa.

Obviamente, cualesquiera excipientes descritos anteriormente no están limitados a estos ejemplos.

25 Cuando se fabrican inyecciones (para administración intravenosa, administración intramuscular, administración subcutánea y administración intraperitoneal), se pueden fabricar añadiendo ajustadores del pH, tampones, agentes de suspensión, agentes solubilizantes, antioxidantes, conservantes (antisépticos), agentes que ajustan la tonicidad, o similares, a Compuestos (1) o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos según sea necesario, y tratando mediante métodos convencionales. Las formulaciones liofilizadas a disolver antes del uso también se pueden preparar mediante liofilización. Estas inyecciones se pueden administrar intravenosamente, subcutáneamente e intramuscularmente, por ejemplo.

30 Los ejemplos de ajustadores del pH y de tampones incluyen ácidos orgánicos o ácidos inorgánicos y/o sales de los mismos; los ejemplos de agentes de suspensión incluyen metilcelulosa, polisorbato 80 y carboximetilcelulosa sódica; los ejemplos de agentes solubilizantes incluyen polisorbato 80 y monolaurato de polioxietilensorbitán; los ejemplos de antioxidantes incluyen α -tocoferol; los ejemplos de conservantes incluyen parahidroxibenzoato de metilo y parahidroxibenzoato de etilo; y los ejemplos de agentes que ajustan la tonicidad incluyen glucosa, cloruro sódico y manitol; sin embargo, obviamente los excipientes no están limitados a estos ejemplos.

Estas inyecciones pueden contener habitualmente de 0.000001 a 99.5% en peso, preferiblemente de 0.00001 a 90% en peso, o similar, de los Compuestos (1) o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

40 Cuando se fabrican formulaciones externas, las formulaciones de absorción transdérmica (tales como ungüentos y parches), colirios, gotas nasales, supositorios, y similares, se pueden fabricar añadiendo materiales base y, según sea necesario, los emulsionantes, conservantes, ajustadores del pH, colorantes, y similares, descritos anteriormente, a Compuestos (1) o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, y tratando mediante métodos convencionales.

45 Como materiales base, se pueden usar diversas materias primas usadas convencionalmente para fármacos, cuasifármacos, cosméticos, y similares, y los ejemplos incluyen materias primas tales como aceites animales y vegetales, aceites minerales, aceites de ésteres, ceras, alcoholes superiores y agua pura.

Estas formulaciones externas pueden contener habitualmente de 0.000001 a 99.5% en peso, preferiblemente de 0.00001 a 90% en peso, o similar, de los Compuestos (1) o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

50 La dosificación del medicamento según la presente invención varía típicamente dependiendo del síntoma, edad, sexo, peso, o similar, pero es aceptable si es una dosis suficiente para producir un efecto deseado. Por ejemplo, para un adulto, se usa una dosis de alrededor de 0.1 a 5000 mg (preferiblemente de 0.5 a 1000 mg, preferiblemente de 1 a 600 mg) por día en una dosis durante uno o más días, o en 2 a 6 dosis divididas durante un día.

La presente invención también incluye Compuestos (1) marcados isotópicamente, y tales compuestos son los mismos que los Compuestos (1), excepto que uno o más átomos están sustituidos por un átomo o átomos que tienen una masa atómica o número másico diferente de una masa atómica o número másico encontrado habitualmente en la naturaleza. Los isótopos que se pueden incorporar en los Compuestos (1) son isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, flúor, yodo y cloro, por ejemplo, e incluyen ^2H , ^3H , ^{11}C , ^{14}C , ^{13}N , ^{15}O , ^{18}F , ^{32}P , ^{35}S , ^{123}I y ^{125}I .

Los Compuestos (1) que contienen los isótopos descritos anteriormente y/u otros isótopos, o sus derivados farmacéuticamente aceptables (tales como sales) caen dentro de las reivindicaciones de la presente memoria descriptiva. Los compuestos marcados isotópicamente de la presente invención, por ejemplo compuestos en los que se incorporan radioisótopos tales como ^3H y/o ^{14}C , son útiles para ensayos de distribución tisular para medicamentos y/o sustratos. Se considera que ^3H y ^{14}C son útiles debido a su facilidad de preparación y detección. Se considera que los isótopos ^{11}C y ^{18}F son útiles para PET (tomografía de emisión positrónica), se considera que un isótopo ^{125}I es útil para SPECT (tomografía computerizada de emisión de un solo fotón), y todos estos isótopos son útiles para la formación de imágenes cerebrales. La sustitución por isótopos más pesados tales como ^2H produce ciertas ventajas terapéuticas, tales como un incremento en la semivida in vivo debido a una mayor estabilidad metabólica, o una reducción en la dosis requerida, y por lo tanto se considera que es útil en ciertas circunstancias. Los Compuestos (1) marcados isotópicamente se pueden preparar de manera uniforme llevando a cabo los procedimientos descritos en los siguientes esquemas y/o ejemplos usando reactivos isotópicamente marcados fácilmente disponibles en lugar de reactivos no marcados isotópicamente.

Los Compuestos (1) se pueden usar como sondas químicas para atrapar proteínas diana en compuestos bioactivos de bajo peso molecular. Específicamente, el Compuesto (1) se puede convertir en una sonda de cromatografía de afinidad, una sonda de fotoafinidad, o similar, introduciendo un grupo marcador, un ligador, o similar, en un resto que difiera de un resto estructural esencial para la expresión de actividad del compuesto, mediante una técnica descrita en J. Mass Spectrum. Soc. Jpn., Vol. 51, No. 5, 2003, p. 492-498, o en el documento WO 2007/139149, o similar.

Los ejemplos de grupos marcadores, ligadores, o similares, usados para sondas químicas incluyen grupos mostrados en el grupo que consiste en (1) a (5) a continuación.

(1) Grupos marcadores de proteínas, tales como grupos marcadores de fotoactividad (tales como un grupo benzóilo, un grupo benzofenona, un grupo azido, un grupo carbonilazido, un grupo diaziridina, un grupo enona, un grupo diazo y un grupo nitro) y grupos de afinidad química (tales como un grupo cetona en el que se sustituye un átomo de carbono en posición α por un átomo de halógeno, un grupo carbamoilo, un grupo éster, un grupo alquiltio, receptores de Michael tales como cetonas y ésteres α,β -insaturados, y un grupo oxirano),

(2) ligadores escindibles tales como -S-S-, -O-Si-O-, monosacáridos (tal como un grupo glucosa y un grupo galactosa) o disacáridos (tal como lactosa), y ligadores oligopeptídicos escindibles mediante reacción enzimática,

(3) grupos marcadores de captación, tales como biotina y un grupo 3-(4,4-difluoro-5,7-dimetil-4H-3a,4a-diaza-4-bora-s-indacen-3-il)propionilo,

(4) marcadores detectables, tales como grupos radiomarcadores tales como ^{125}I , ^{32}P , ^3H y ^{14}C ; grupos marcadores de fluorescencia tales como fluoresceína, rodamina, dansilo, umbeliferona, 7-nitrofurazano y un grupo 3-(4,4-difluoro-5,7-dimetil-4H-3a,4a-diaza-4-bora-s-indacen-3-il)propionilo; grupos quimioluminiscentes, tales como luciferina y luminol; e iones de metales pesados tales como iones de metales lantanoides e iones de radio; o

(5) grupos unidos a soportes de fase sólida tales como perlas de vidrio, lechos de vidrio, placas de microtitulación, perlas de agarosa, lechos de agarosa, perlas de poliestireno, lechos de poliestireno, perlas de nailon y lechos de nailon.

Las sondas preparadas introduciendo grupos marcadores o similares seleccionados del grupo que consiste en (1) a (5) anteriormente en Compuestos (1) según el método descrito en los documentos anteriores o similares se pueden usar como sondas químicas para la identificación de proteínas marcadas útiles, por ejemplo, para investigar nuevas dianas farmacéuticas.

Ejemplos

Los Compuestos (1) se pueden producir mediante los métodos descritos en los ejemplos más abajo, por ejemplo, y los efectos de los Compuestos (1) se pueden confirmar mediante los métodos descritos en los ejemplos de ensayo más abajo. Sin embargo, estos métodos son ilustrativos, y la presente invención no está limitada en ningún caso a los siguientes ejemplos específicos.

Cuando se usa óxido de deuterio como disolvente de medida en RMN ^1H para la confirmación de las estructuras de los compuestos, el desplazamiento químico del espectro de cada compuesto se muestra como un valor corregido con el desplazamiento químico del pico residual del disolvente en óxido de deuterio como 4.79.

(Ejemplo 1) Forma quiral de ácido 2-[(3S,4R)-1-[[2-cloro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-3-[[1-(2-fluoropentil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpiperolidin-3-il]acético

(Ejemplo 1a) 4-[[Benciloxi]carbonil]amino]-piperidin-1-carboxilato de terc-butilo

5 Se mezclaron con enfriamiento con hielo 4-aminopiperidin-1-carboxilato de terc-butilo (10 g, 49.9 mmoles), N,N-diisopropiletilamina (26 ml, 149 mmoles), cloroformiato de bencilo (8.5 ml, 59.5 mmoles) y diclorometano (deshidratado) (300 ml). La mezcla resultante se agitó a la temperatura ambiente durante una hora. Una disolución acuosa saturada de bicarbonato de sodio se añadió a la mezcla de reacción, que se extrajo con diclorometano tres veces. La capa orgánica se lavó con salmuera y se secó sobre sulfato de sodio anhidro, y el disolvente se separó por destilación. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice (gel de sílice, disolvente de elución: acetato de etilo/heptano), para dar el compuesto del título (13.1 g, rendimiento 78.5%).

10 RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm; 1.24-1.38 (2H, m), 1.45 (9H, s), 1.88-2.00 (2H, br), 2.80-2.94 (2H, br), 3.60-3.72 (1H, br), 3.92-4.10 (2H, br), 4.63-4.75 (1H, m), 5.09 (2H, s), 7.26-7.40 (5H, m).

(Ejemplo 1b) N-(Piperidin-4-il)carbamato de bencilo

15 Una mezcla de 4-[[benciloxi]carbonil]amino]-piperidin-1-carboxilato de terc-butilo obtenido en el Ejemplo 1a (13.1 g, 39.2 mmoles), una disolución acuosa 5 N de ácido clorhídrico (40 ml, 200 mmoles) y metanol (40 ml) se agitó a la temperatura ambiente durante 23 horas. Una disolución acuosa 5 N de hidróxido de sodio (40 ml) se añadió a la mezcla de reacción con enfriamiento con hielo. El agua y el disolvente se separaron de la mezcla de la reacción mediante destilación, mientras la mezcla se destiló azeotrópicamente con etanol. Se añadió etanol al residuo, la materia insoluble se eliminó mediante filtración, y el filtrado se concentró para dar el compuesto del título (9.10 g, rendimiento 99.1%).

20 RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm; 1.31-1.42 (2H, m), 1.92-2.04 (2H, br), 2.70 (2H, d, J=12 Hz), 3.10 (2H, d, J=12 Hz), 3.56-3.68 (1H, br), 4.72-4.81 (1H, br), 5.09 (2H, s), 7.26-7.40 (5H, m).

(Ejemplo 1c) Forma quiral de N-[1-(2-fluoropentil)piperidin-4-il]carbamato de bencilo

25 Se mezclaron a la temperatura ambiente ácido (5S)-(-)-2,2,3-trimetil-5-bencil-4-imidazolidinona-dicloroacético (90 mg, 0.259 mmoles), N-fluorobencenosulfonimida (484 mg, 1.53 mmoles), 2-propanol (0.4 ml) y tetrahidrofurano (deshidratado) (3.6 ml). La mezcla de reacción se enfrió hasta -10°C, y después se añadió pentanal (0.175 ml, 1.67 mmoles), seguido de agitación durante tres horas y 20 minutos mientras se calentaba naturalmente desde -10°C hasta la temperatura ambiente. Se añadieron N-(piperidin-4-il)carbamato de bencilo obtenido en el Ejemplo 1b (304 mg, 1.3 mmoles) y triacetoxiborohidruro de sodio (600 mg, 2.83 mmoles) a la mezcla de reacción, que se agitó a la temperatura ambiente durante 15 horas y 40 minutos. Se añadieron agua y una disolución acuosa de bicarbonato de sodio a la mezcla de reacción, la materia insoluble se eliminó mediante filtración, y el filtrado resultante se extrajo con acetato de etilo dos veces. La capa orgánica se lavó con salmuera y se secó sobre sulfato de sodio anhidro, y el disolvente se separó por destilación. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice (gel de sílice, disolvente de elución: acetato de etilo/heptano) para dar una mezcla en forma quiral del compuesto del título (44 mg, rendimiento 10.5%).

35 RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm; 0.94 (3H, t, J=7 Hz), 1.38-1.70 (6H, m), 1.85-2.00 (2H, br), 2.14-2.24 (2H, m), 2.35-2.48 (1H, m), 2.55-2.64 (1H, m), 2.80-3.00 (2H, m), 3.48-3.60 (1H, m), 4.59-4.72 (2H, m), 5.09 (2H, s), 7.26-7.37 (5H, m).

Resolución óptica mediante HPLC

40 (Condiciones del análisis) Columna: CHIRALPAK AD-H (fabricada por Daicel Chemical Industries, Ltd.) (0.46 cm de diámetro × 15 cm), eluyente: hexano/etanol = 9/1 (v/v), caudal: 1 ml/min., detección: UV (210 nm)

(Resultado del análisis) La mezcla en forma quiral resultante se analizó en las condiciones anteriores del análisis, y se observó un pico con un tiempo de retención de 7.30 minutos (exceso enantiomérico: 80% ee) y un pico con un tiempo de retención de 8.28 minutos.

45 Se obtuvieron dos lotes adicionales de la mezcla en forma quiral mediante un método similar al método anterior. Se disolvieron en etanol (18 ml) tres lotes en total de la mezcla en forma quiral (451 mg, 1.4 mmoles), y se resolvieron ópticamente de manera repetida en las siguientes condiciones de fraccionamiento, y el pico con un tiempo de retención más corto se fraccionó para dar el compuesto del título (318 mg).

50 (Condiciones de fraccionamiento) Columna: CHIRALPAK AD-H (fabricada por Daicel Chemical Industries, Ltd.) (2 cm de diámetro × 25 cm), eluyente: hexano/etanol = 9/1 (v/v), caudal: 10 ml/min., detección: UV (220 nm)

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm; 0.94 (3H, t, J=7 Hz), 1.38-1.70 (6H, m), 1.85-2.00 (2H, br), 2.14-2.24 (2H, m),

2.35-2.48 (1H, m), 2.55-2.64 (1H, m), 2.80-3.00 (2H, m), 3.48-3.60 (1H, m), 4.59-4.72 (2H, m), 5.09 (2H, s), 7.26-7.37 (5H, m).

El compuesto del título resultante se analizó en las condiciones anteriores de análisis para encontrar que el tiempo de retención fue 7.41 minutos y el exceso enantiomérico fue >99% ee.

5 (Ejemplo 1d) Forma quiral de 1-(2-fluoropentil)piperidin-4-amina

Una mezcla de la forma quiral (con un tiempo de retención más corto) de N-[1-(2-fluoropentil)piperidin-4-il]carbamato de bencilo obtenido en el Ejemplo 1c (318 mg, 0.986 mmoles), Pd al 10%/C (100 mg) y metanol (7 ml) se agitó a la temperatura ambiente durante dos horas en una atmósfera de hidrógeno. La atmósfera en la vasija de reacción se sustituyó por nitrógeno, el Pd al 10%/C se separó por filtración, y el disolvente se separó por destilación para dar el compuesto del título (249 mg).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm; 0.95 (3H, t, J=7 Hz), 1.35-1.70 (4H, m), 1.92-2.10 (2H, br), 2.20-2.32 (2H, br), 2.48-2.62 (2H, br), 2.65-2.91 (2H, m), 3.18-3.30 (2H, br), 3.31-3.42 (1H, br), 4.72-4.93 (1H, m).

(Ejemplo 1e) (2E)-But-2-enoato de bencilo

15 Se disolvió ácido crotónico (70 g, 812 mmoles) en N,N-dimetilformamida (467 ml), que se enfrió en un baño de hielo en nitrógeno, y se añadió carbonato de potasio (61.6 g, 447 mmoles). Se añadió gota a gota bromuro de bencilo (91.7 ml, 772 mmoles) a la mezcla de reacción durante 20 minutos. La mezcla de reacción se agitó a la temperatura ambiente durante 18 horas. Se añadió acetato de etilo a la mezcla de reacción, que se filtró a través de Celite. La disolución de acetato de etilo filtrada se lavó con agua, con una disolución acuosa saturada de bicarbonato de sodio y con una disolución acuosa saturada de cloruro de sodio. La capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró a presión reducida, para dar el compuesto del título (142 g, rendimiento: 99.4%).

20 RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm; 1.87-1.90 (3H, m), 5.17 (2H, s), 5.87-5.92 (1H, m), 6.98-7.07 (1H, m), 7.26-7.39 (5H, m).

(Ejemplo 1f) (3RS,4SR)-1-Bencil-4-metilpirrolidin-3-carboxilato de bencilo

25 El (2E)-but-2-enoato de bencilo obtenido en el Ejemplo 1e (20.5 g, 116 mmoles) se disolvió en diclorometano (5 ml), y la mezcla se enfrió en un baño de hielo con agitación. Se añadió ácido trifluoroacético (257 µl, 3.47 mmoles), y se añadió gota a gota N-(metoximetil)-N-(trimetilsililmetil)bencilamina (33.1 g, 139 mmoles) al líquido de la reacción durante 15 minutos de manera que la temperatura interna no superó 62°C, mientras se lavaba con diclorometano (25 ml). El líquido de la reacción se dejó reposar hasta que alcanzó la temperatura ambiente, y se agitó durante 15 horas. El líquido de la reacción se concentró y se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice (disolvente de elución: acetato de etilo/heptano) para dar el compuesto del título (38 g).

30 RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm; 1.14 (3H, d, J=6 Hz), 2.18-2.22 (1H, m), 2.48-2.65 (2H, m), 2.75-2.85 (2H, m), 2.90-2.94 (1H, m), 3.54-3.66 (2H, m), 5.13 (2H, s), 7.20-7.40 (10H, m).

(Ejemplo 1g) (3RS,4SR)-1-Bencil-3-[2-(terc-butoxi)-2-oxoetil]-4-metilpirrolidin-3-carboxilato de bencilo

35 El (3RS,4SR)-1-bencil-4-metilpirrolidin-3-carboxilato de bencilo obtenido en el Ejemplo 1f (30 g, 97.4 mmoles) se disolvió en tetrahidrofurano (300 ml), que se enfrió hasta -70°C con agitación en nitrógeno. Se añadió gota a gota durante 20 minutos una disolución 1.11 M de diisopropilamido de litio/n-hexano-tetrahidrofurano (105 ml, 116 mmoles), de manera que la temperatura interna no superó -64.3°C. La mezcla se agitó a -70°C durante 1 hora, y después se añadieron gota a gota durante 10 minutos tetrahidrofurano (30 ml) y bromoacetato de terc-butilo (26.6 g, 136 mmoles) de manera que la temperatura interna no superó -60°C. La mezcla de reacción se agitó a -70°C durante una hora adicional, y después se añadió a la mezcla de reacción una disolución acuosa saturada de cloruro de amonio. Inmediatamente después, la mezcla de reacción se diluyó con agua, y se añadió acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con salmuera y con una disolución acuosa 5 N de ácido clorhídrico, y después se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice (disolvente de elución: acetato de etilo/heptano). El residuo se purificó adicionalmente mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice NH (disolvente de elución: heptano/acetato de etilo = 98/2) para dar el compuesto del título (6 g, rendimiento: 14.5%).

45 RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm; 0.86 (3H, d, J=6 Hz), 1.34 (9H, s), 2.05-2.15 (2H, m), 2.53 (1H, d, J=17 Hz), 2.91-3.00 (3H, m), 3.28 (1H, d, J=10 Hz), 3.59-3.72 (2H, m), 5.08-5.16 (2H, m), 7.19-7.39 (10H, m).

Mediante un método similar, se obtuvieron 18.1 g del compuesto del título.

50 (Ejemplo 1h) (3RS,4SR)-3-[2-(terc-Butoxi)-2-oxoetil]-4-metilpirrolidin-1,3-dicarboxilato de 1,3-dibencilo

El (3RS,4SR)-1-bencil-3-[2-(terc-butoxi)-2-oxoetil]-4-metilpirrolidin-3-carboxilato de bencilo obtenido de manera

- similar a aquel en el Ejemplo 1g (11.7 g, 27.6 mmoles) se disolvió en diclorometano (117 ml), y se añadió gota a gota al líquido de la reacción durante 20 minutos cloroformiato de bencilo (23.7 ml, 166 mmoles), de manera que la temperatura interna no superó 22°C. La mezcla se agitó a la temperatura ambiente durante 12 horas, y después el disolvente se separó por destilación. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice NH (disolvente de elución: acetato de etilo/heptano) para dar el compuesto del título (9.1 g, rendimiento: 70.5%).
- 5 RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm; 0.84-0.90 (3H, m), 1.32-1.46 (9H, m), 2.09-2.16 (1H, m), 2.21-2.27 (1H, m), 3.04-3.14 (2H, m), 3.33-3.38 (1H, m), 3.60-3.68 (1H, m), 4.32 (1H, t, J=12 Hz), 5.07-5.20 (4H, m), 7.26-7.36 (10H, m).
- Análisis mediante HPLC;
- (Condiciones del análisis 1) Columna: CHIRALPAK AD-H (fabricada por Daicel Chemical Industries, Ltd.) (0.46 cm de diámetro × 15 cm), eluyente: hexano/etanol = 95/5 (v/v), caudal: 1 ml/min., detección: UV (210 nm)
- 10 (Resultado del análisis) El compuesto del título resultante se analizó en las condiciones anteriores del análisis 1, y se observó un pico con un tiempo de retención de 8.56 minutos y un pico con un tiempo de retención de 10.85 minutos.
- El compuesto del título obtenido separadamente se analizó en una columna quiral diferente de la columna anterior.
- (Condiciones del análisis 2) Columna: CHIRALPAK IA (fabricada por Daicel Chemical Industries, Ltd.) (0.46 cm de diámetro × 15 cm), eluyente: hexano/etanol = 95/5 (v/v), caudal: 1 ml/min., detección: UV (210 nm)
- 15 (Resultado del análisis) El compuesto del título resultante se analizó en las condiciones anteriores del análisis 2, y se observó un pico con un tiempo de retención de 6.78 minutos y un pico con un tiempo de retención de 8.20 minutos.
- (Ejemplo 1i) Ácido (3S,4R)-3-[2-(terc-butoxi)-2-oxoetil]-4-metilpirrolidin-3-carboxílico
- 20 El (3RS,4SR)-3-[2-(terc-butoxi)-2-oxoetil]-4-metilpirrolidin-1,3-dicarboxilato de 1,3-dibencilo obtenido en el Ejemplo 1h (9.1 g) se resolvió ópticamente de manera repetida en los siguientes dos tipos de condiciones A o B.
- Resolución óptica mediante HPLC;
- (Condiciones de fraccionamiento A) Columna: CHIRALPAK AD-H (fabricada por Daicel Chemical Industries, Ltd.) (2 cm de diámetro × 25 cm), eluyente: hexano/etanol = 85/15 (v/v), caudal: 8-10 ml/min.
- (Condiciones de fraccionamiento B) Columna: CHIRALPAK IA (fabricada por Daicel Chemical Industries, Ltd.) (3 cm de diámetro × 25 cm), eluyente: hexano/etanol = 95/5 (v/v), caudal: 22 ml/min.
- 25 El pico con un tiempo de retención más corto se fraccionó, y los tres lotes resultantes se analizaron entonces en las siguientes condiciones de análisis.
- Análisis mediante HPLC;
- (Condiciones de análisis) Columna: CHIRALPAK AD-H (fabricada por Daicel Chemical Industries, Ltd.) (0.46 cm de diámetro × 15 cm), eluyente: hexano/etanol = 95/5 (v/v), caudal: 1 ml/min., detección: UV (210 nm)
- 30 (Resultado del análisis) El tiempo de retención fue de 9.0 minutos a 9.3 minutos, y el exceso enantiomérico fue >99% ee para todos los lotes.
- Los tres lotes se combinaron, la forma quiral resultante (4.04 g) se disolvió en metanol (121 ml), se añadió Pd al 10%/C (0.77 g), y la atmósfera se sustituyó por hidrógeno gaseoso. La mezcla se agitó a la temperatura ambiente durante 13 horas, y después se agitó con adición de agua templada (de 30 a 40°C, 122 ml), y el sólido precipitado se disolvió. Después, el Pd/C se separó por filtración, el disolvente se concentró y se secó para dar el compuesto del título (2.1 g).
- 35 RMN ¹H (400 MHz, D₂O) δ ppm; 0.97 (3H, d, J=7 Hz), 1.42 (9H, s), 2.15-2.22 (1H, m), 2.30 (1H, d, J=17 Hz), 2.93 (1H, d, J=17 Hz), 3.04 (1H, t, J=12 Hz), 3.18 (1H, d, J=12 Hz), 3.49 (1H, dd, J=8, 12 Hz), 4.03 (1H, d, J=12 Hz).
- 40 (Ejemplo 1j) Ácido (3S,4R)-1-bencil-3-[2-(terc-butoxi)-2-oxoetil]-4-metilpirrolidin-3-carboxílico
- Una mezcla de ácido (3S,4R)-3-[2-(terc-butoxi)-2-oxoetil]-4-metilpirrolidin-3-carboxílico obtenido en el Ejemplo 1i (1.8 g, 7.4 mmoles), benzaldehído (1.51 ml, 14.8 mmoles), ácido acético (0.635 ml, 11.1 mmoles), triacetoxiborohidruro de sodio (3.14 g, 14.8 mmoles) y metanol (35 ml) se calentó a 40°C durante 38 horas y 30 minutos. La mezcla de reacción se concentró, y el residuo resultante se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice (gel de sílice ODS, disolvente de elución: agua/metanol) para dar el compuesto del título como Lote A (584 mg) y Lote B (708 mg).
- 45

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) del Lote A δ ppm; 1.02 (3H, d, J=7 Hz), 1.38 (9H, s), 2.14 (1H, d, J=17 Hz), 2.15-2.28 (1H, br), 2.97 (1H, d, J=17 Hz), 3.10-3.42 (3H, m), 4.00-4.10 (1H, m), 4.30-4.40 (1H, br), 4.46 (1H, d, J=12 Hz), 7.45-7.53 (5H, m).

RMN ¹H del Lote B: idéntico a la RMN del Lote A.

- 5 (Ejemplo 1k) Forma quiral de 2-[(3S,4R)-1-bencil-3-[[1-(2-fluoropentil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acetato de terc-butilo

Una mezcla de ácido (3S,4R)-1-bencil-3-[2-(terc-butoxi)-2-oxoetil]-4-metilpirrolidin-3-carboxílico obtenido en el Ejemplo 1j (300 mg, 0.9 mmoles), la forma quiral de 1-(2-fluoropentil)piperidin-4-amina obtenida en el Ejemplo 1d (182 mg, 0.967 mmoles), trietilamina (0.376 ml, 2.7 mmoles), PyBOP (656 mg, 1.26 mmoles) y N,N-dimetilformamida (4.5 ml) se agitó a la temperatura ambiente durante 61 horas y 30 minutos. Se añadieron trietilamina (0.207 ml, 1.49 mmoles) y PyBOP (360 mg, 0.69 mmoles) adicionales, seguido de agitación durante cuatro horas y 30 minutos. Se añadió agua a la mezcla de reacción, que se extrajo dos veces con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con una disolución acuosa saturada de cloruro de amonio y se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, y el disolvente se separó por destilación. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice (gel de sílice NH, disolvente de elución: acetato de etilo/heptano) para dar el compuesto del título (161 mg, rendimiento 35.5%).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm; 0.92 (3H, d, J=7 Hz), 0.96 (3H, t, J=7 Hz), 1.40 (9H, s), 1.40-1.60 (6H, m), 1.82-2.09 (4H, m), 2.16-2.28 (2H, m), 2.36 (1H, d, J=10 Hz), 2.35-2.50 (1H, m), 2.56-2.67 (3H, m), 2.80-2.90 (2H, br), 3.09 (1H, d, J=16 Hz), 3.58-3.79 (4H, m), 4.59-4.80 (1H, m), 7.25-7.40 (5H, m), 8.58 (1H, d, J=8 Hz).

- 20 (Ejemplo 1l) Forma quiral de 2-[(3S,4R)-1-[[2-cloro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-3-[[1-(2-fluoropentil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acetato de terc-butilo

Una mezcla de la forma quiral de 2-[(3S,4R)-1-bencil-3-[[1-(2-fluoropentil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acetato de terc-butilo obtenido en el Ejemplo 1k (161 mg, 0.32 mmoles), hidróxido de paladio al 20% (135 mg) y metanol (5 ml) se agitó a la temperatura ambiente durante 15 horas en una atmósfera de hidrógeno. La atmósfera en la vasija de reacción se sustituyó por nitrógeno, el hidróxido de paladio al 20% se separó por filtración, y el disolvente se separó por destilación. Se añadieron 2-(bromometil)-1-cloro-3-(trifluorometil)benceno (159 mg, 0.581 mmoles), carbonato de potasio (97 mg, 0.702 mmoles) y N,N-dimetilformamida (2 ml) al residuo resultante, que se calentó a 45°C durante tres horas y 15 minutos. Se añadió agua a la mezcla de reacción, que se extrajo dos veces con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con una disolución acuosa saturada de cloruro de amonio y se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, y el disolvente se separó por destilación. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice (gel de sílice NH, disolvente de elución: acetato de etilo/heptano) para dar el compuesto del título (153 mg, rendimiento 78.9%).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm; 0.91 (3H, d, J=7 Hz), 0.95 (3H, t, J=7 Hz), 1.38-1.70 (7H, m), 1.39 (9H, s), 1.82-1.90 (1H, br), 1.97 (1H, d, J=16 Hz), 2.00-2.20 (3H, m), 2.31-2.45 (1H, m), 2.50-2.68 (3H, m), 2.80-2.92 (3H, m), 3.12 (1H, d, J=16 Hz), 3.57 (1H, d, J=10 Hz), 3.60-3.72 (1H, m), 3.92 (1H, d, J=13 Hz), 3.98 (1H, d, J=13 Hz), 4.56-4.74 (1H, m), 7.37 (1H, t, J=8 Hz), 7.61-7.68 (2H, m), 7.85 (1H, d, J=8 Hz).

- (Ejemplo 1m) Forma quiral de ácido 2-[(3S,4R)-1-[[2-cloro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-3-[[1-(2-fluoropentil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético

Una mezcla de la forma quiral de 2-[(3S,4R)-1-[[2-cloro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-3-[[1-(2-fluoropentil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acetato de terc-butilo obtenido en el Ejemplo 1l (153 mg, 0.252 mmoles), ácido trifluoroacético (2 ml, 26.9 mmoles) y diclorometano (deshidratado) (2 ml) se agitó a la temperatura ambiente durante dos horas y 35 minutos. La mezcla de reacción se concentró, y el residuo resultante se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice (gel de sílice ODS, disolvente de elución: agua/metanol) para dar el compuesto del título (122 mg, rendimiento 88%).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm; 0.94-1.02 (6H, m), 1.32-1.70 (5H, m), 1.82-1.90 (1H, br), 2.07-2.20 (3H, m), 2.35-2.75 (8H, m), 2.81-3.05 (3H, m), 3.19 (1H, d, J=10 Hz), 3.63-3.75 (1H, m), 3.89 (1H, d, J=13 Hz), 4.00 (1H, d, J=13 Hz), 4.56-4.76 (1H, m), 7.40 (1H, t, J=8 Hz), 7.62-7.70 (2H, m), 8.52 (1H, d, J=7 Hz).

- (Ejemplo 2) Ácido 2-[(3S,4R)-1-[(2,6-diclorofenil)metil]-3-[[1-(4,4-difluorociclohexil)metil]piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético

(Ejemplo 2a) 4,4-Difluoro-N-metoxi-N-metilciclohexano-1-carboxamida

50 Una mezcla de 4,4-difluorociclohexano-1-carboxilato de etilo (1.9 g, 9.88 mmoles) y tetrahydrofurano (60 ml) se enfrió hasta -70°C, y se añadió hidrocloreuro de N,O-dimetilhidroxiamina (1.44 g, 14.8 mmoles). Posteriormente, se añadió gota a gota bromuro de n-propilmagnesio 1.05 M (24.2 ml, 25.2 mmoles) a la mezcla de reacción a -55°C durante cinco minutos de manera que la temperatura interna no superó -35°C, y la mezcla de reacción se agitó a 0°C durante

30 minutos. Una disolución acuosa saturada de cloruro de amonio se añadió a la mezcla de reacción, que se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio, y el disolvente se separó por destilación. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice (disolvente de elución: acetato de etilo/heptano) para dar el compuesto del título (1.7 g, rendimiento 83%).

5 RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm; 1.65-1.95 (6H, br), 2.13-2.30 (2H, br), 2.70-2.82 (1H, br), 3.20 (3H, s), 3.70 (3H, s).

(Ejemplo 2b) 4,4-Difluorociclohexano-1-carbaldehído

10 Una mezcla de 4,4-difluoro-N-metoxi-N-metilciclohexano-1-carboxamida obtenida en el Ejemplo 2a (1.7 g, 8.21 mmoles) y tetrahidrofurano (60 ml) se enfrió hasta -70°C, se añadió una disolución 1.0 M de hidruro de diisobutilaluminio/tolueno (9.85 ml, 9.85 mmoles), y la mezcla de reacción se agitó a -60°C durante 35 minutos. Posteriormente, se añadió una disolución 1.0 M de hidruro de diisobutilaluminio/tolueno (5 ml, 5 mmoles) a -65°C, y la mezcla de reacción se agitó a -70°C durante dos horas. Una disolución acuosa 2 N de ácido clorhídrico se añadió a la mezcla de reacción, que se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio, y el disolvente se separó por destilación para dar un producto bruto del compuesto del título (1.4 g).

15 RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm; 1.72-1.92 (4H, br), 1.95-2.18 (4H, br), 2.30-2.40 (1H, br), 9.68 (1H, s).

(Ejemplo 2c) N-{1-[(4,4-Difluorociclohexil)metil]piperidin-4-il}carbamato de terc-butilo

20 Una mezcla del producto bruto de 4,4-difluorociclohexano-1-carbaldehído obtenido en el Ejemplo 2b (1.4 g) y tetrahidrofurano (100 ml) se enfrió hasta 0°C, se le añadió N-(piperidin-4-il)carbamato de terc-butilo (2.27 g, 11.3 mmoles), seguido de agitación durante 20 minutos. Después se añadió triacetoxiborohidruro de sodio (2.2 g, 10.4 mmoles) a la mezcla de reacción, que se agitó a la temperatura ambiente durante ocho horas. Se añadió salmuera a la mezcla de reacción, que se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio, y el disolvente se separó por destilación. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice (disolvente de elución: acetato de etilo/heptano). El residuo resultante se disolvió en acetato de etilo y se lavó con una disolución acuosa saturada de bicarbonato de sodio, y el disolvente se separó después por destilación para dar el compuesto del título (650 mg, rendimiento 20.7%).

25 RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm; 1.15-2.20 (17H, m), 1.44 (9H, s), 2.70-2.85 (2H, br), 3.38-3.53 (1H, br), 4.37-4.50 (1H, br).

(Ejemplo 2d) 1-[(4,4-Difluorociclohexil)metil]piperidin-4-amina

30 Una disolución 4 N de cloruro de hidrógeno/1,4-dioxano (11 ml, 43 mmoles) se añadió a una mezcla de N-{1-[(4,4-difluorociclohexil)metil]piperidin-4-il}carbamato de terc-butilo obtenido en el Ejemplo 2c (650 mg, 1.96 mmoles) y metanol (11 ml), seguido de agitación a la temperatura ambiente durante tres horas. Después de concentrar el líquido de la reacción, el residuo se disolvió en acetato de etilo, se añadió una disolución acuosa 1 N de hidróxido de sodio, y la capa orgánica se separó. La capa acuosa se extrajo adicionalmente dos veces con acetato de etilo, las capas orgánicas se secaron sobre sulfato de sodio, y el disolvente se separó después por destilación para dar el compuesto del título (419 mg, rendimiento 92%).

35 RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm; 1.16-1.42 (7H, m), 1.59-2.16 (12H, m), 2.58-2.68 (1H, m), 2.74-2.82 (2H, m).

(Ejemplo 2e) (2E)-But-2-enoato de (4-metoxifenil)metilo

40 Se disolvió ácido crotonico (17.2 g, 200 mmoles) en N,N-dimetilformamida (100 ml) con enfriamiento en un baño de hielo en nitrógeno, y se añadió carbonato de potasio en polvo (15.2 g, 110 mmoles). La mezcla se agitó durante 30 minutos, y después se añadió gota a gota durante 15 minutos cloruro de 4-metoxibencilo (29.8 g, 190 mmoles). La mezcla de reacción se agitó a la temperatura ambiente durante cuatro horas, y a 45°C durante 14 horas. Se añadieron acetato de etilo (500 ml) y agua (200 ml) al líquido de la reacción. La capa orgánica separada se lavó con agua (100 ml × 2) y con salmuera (100 ml). La capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (100 ml). Las capas orgánicas se combinaron, se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron a presión reducida para dar un producto bruto del compuesto del título (40.51 g, rendimiento: 98.2%).

45 RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm; 1.87 (3H, dd, J=2, 7 Hz), 3.81 (3H, s), 5.10 (2H, s), 5.87 (1H, dq, J=2, 16 Hz), 6.86-6.92 (2H, m), 7.00 (1H, dq, J=7, 16 Hz), 7.28-7.34 (2H, m).

(Ejemplo 2f) (3RS,4SR)-1-Bencil-4-metilpiperidin-3-carboxilato de (4-metoxifenil)metilo

50 El compuesto del título (57.86 g, rendimiento: 86.5%) se obtuvo a partir de (2E)-but-2-enoato de (4-metoxifenil)metilo obtenido en el Ejemplo 2e (40.6 g, 197 mmoles) mediante un método similar al método descrito en el Ejemplo 1f.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm; 1.12 (3H, d, J=7 Hz), 2.17-2.24 (1H, m), 2.46-2.62 (2H, m), 2.73-2.86 (2H, m),

2.87-2.93 (1H, m), 3.55 (1H, d, J=13 Hz), 3.63 (1H, d, J=13 Hz), 3.81 (3H, s), 5.03-5.10 (2H, m), 6.86-6.92 (2H, m), 7.21-7.35 (7H, m).

(Ejemplo 2g) (3RS,4SR)-1-Bencil-3-[2-(terc-butoxi)-2-oxoetil]-4-metilpirrolidin-3-carboxilato de (4-metoxifenil)metilo

- 5 El compuesto del título (60.3 g, rendimiento: 80.1%) se obtuvo a partir de (3RS,4SR)-1-bencil-4-metilpirrolidin-3-carboxilato de (4-metoxifenil)metilo obtenido en el Ejemplo 2f (56.7 g, 166 mmoles) mediante un método similar al método descrito en el Ejemplo 1g.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm; 0.83 (3H, d, J=7 Hz), 1.35 (9H, s), 2.05-2.14 (2H, m), 2.51 (1H, d, J=17 Hz), 2.90-2.98 (2H, m), 3.60 (1H, d, J=13 Hz), 3.70 (1H, d, J=13 Hz), 3.81 (3H, s), 5.04 (1H, d, J=12 Hz), 5.07 (1H, d, J=12 Hz), 6.85-6.91 (2H, m), 7.19-7.34 (7H, m).

- 10 (Ejemplo 2h) (3RS,4SR)-3-[2-(terc-Butoxi)-2-oxoetil]-4-metilpirrolidin-1,3-dicarboxilato de 3-(4-metoxifenil)metilo y 1-bencilo

El compuesto del título (15 g, rendimiento: 65.1%) se obtuvo a partir de (3RS,4SR)-1-bencil-3-[2-(terc-butoxi)-2-oxoetil]-4-metilpirrolidin-3-carboxilato de (4-metoxifenil)metilo obtenido en el Ejemplo 2g (21 g, 46.3 mmoles) mediante un método similar al método descrito en el Ejemplo 1h.

- 15 RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm; 0.80-0.88 (3H, m), 1.38 (9H, d, J=5 Hz), 2.04-2.15 (1H, m), 2.22 (1H, dd, J=3, 7 Hz), 3.00-3.12 (2H, m), 3.30-3.36 (1H, m), 3.57-3.67 (1H, m), 3.79 (3H, d, J=4 Hz), 4.30 (1H, t, J=12 Hz), 5.00-5.16 (4H, m), 6.82-6.86 (2H, m), 7.23-7.39 (7H, m).

Análisis mediante HPLC;

- 20 (Condiciones del análisis) Columna: CHIRALPAK AD-H (fabricada por Daicel Chemical Industries, Ltd.) (0.46 cm de diámetro × 15 cm), 40°C, eluyente: hexano/etanol = 9/1 (v/v), caudal: 1 ml/min., detección: UV (210 nm)

(Resultado del análisis) El compuesto del título resultante se analizó en las condiciones anteriores de análisis, y se observó un pico con un tiempo de retención de 7.14 minutos y un pico con un tiempo de retención de 9.06 minutos.

(Ejemplo 2i) (3S,4R)-3-[2-(terc-Butoxi)-2-oxoetil]-4-metilpirrolidin-1,3-dicarboxilato de 3-(4-metoxifenil)metilo y 1-bencilo

- 25 El (3RS,4SR)-3-[2-(terc-butoxi)-2-oxoetil]-4-metilpirrolidin-1,3-dicarboxilato de 3-(4-metoxifenil)metilo y 1-bencilo obtenido en el Ejemplo 2h (7.2 g, 14.5 mmoles) se resolvió ópticamente de manera repetida mediante HPLC (CHIRALPAK AD-H (2 cm de diámetro × 25 cm), disolvente de elución: hexano/etanol = 85/15, caudal: 8-10 ml/min.) para dar una forma quiral que corresponde al pico con un tiempo de retención más corto (2.92 g, rendimiento: 40.5%).

- 30 Análisis mediante HPLC;

(Condiciones del análisis) Columna: CHIRALPAK AD-H (fabricada por Daicel Chemical Industries, Ltd.) (0.46 cm de diámetro × 15 cm), 40°C, eluyente: hexano/etanol = 9/1 (v/v), caudal: 1 ml/min., detección: UV (210 nm)

(Resultado del análisis) La forma quiral resultante se analizó en las condiciones anteriores de análisis para encontrar que el tiempo de retención fue 7.18 minutos y el exceso enantiomérico fue >99% ee.

- 35 (Ejemplo 2j) Ácido (3S,4R)-3-[2-(terc-butoxi)-2-oxoetil]-4-metilpirrolidin-3-carboxílico

- 40 Se añadieron etanol (50 ml) y Pd al 10%/C (500 mg) a (3S,4R)-3-[2-(terc-butoxi)-2-oxoetil]-4-metilpirrolidin-1,3-dicarboxilato de 3-(4-metoxifenil)metilo y 1-bencilo obtenido en el Ejemplo 2i (2.92 g, 5.87 mmoles), seguido de agitación a la temperatura ambiente durante 38 horas y cinco minutos en una atmósfera de hidrógeno. Se añadió agua (100 ml) al líquido de la reacción, que se agitó y se filtró. El filtrado se concentró para dar el compuesto del título (1.37 g, rendimiento: 95.9%).

RMN ¹H (400 MHz, D₂O) δ ppm; 1.00 (3H, d, J=7 Hz), 1.45 (9H, s), 2.16-2.37 (1H, m), 2.33 (1H, d, J=17 Hz), 2.96 (1H, d, J=17 Hz), 3.05-3.11 (1H, m), 3.22 (1H, d, J=12 Hz), 3.50-3.56 (1H, m), 4.07 (1H, d, J=12 Hz).

(Ejemplo 2k) Ácido (3S,4R)-3-[2-(terc-butoxi)-2-oxoetil]-1-[(2,6-diclorofenil)metil]-4-metilpirrolidin-3-carboxílico

- 45 Se añadieron 2,6-diclorobenzaldehído (646 mg, 3.7 mmoles) y triacetoxiborohidruro de sodio (782 mg, 3.7 mmoles) a una mezcla de ácido (3S,4R)-3-[2-(terc-butoxi)-2-oxoetil]-4-metilpirrolidin-3-carboxílico obtenido mediante el método del Ejemplo 2j (600 mg, 2.47 mmoles), ácido acético (0.14 ml, 2.47 mmoles) y metanol (10 ml), y la mezcla de reacción se agitó a la temperatura ambiente durante dos horas. Posteriormente se añadieron 2,6-diclorobenzaldehído (430 mg, 2.5 mmoles) y triacetoxiborohidruro de sodio (522 mg, 2.5 mmoles), seguido de

agitación a una temperatura externa de 40°C durante 10.5 horas. Se añadió agua a la mezcla de reacción, que se extrajo con diclorometano cinco veces, y la capa orgánica se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice (disolvente de elución: acetato de etilo/metanol) para dar el Lote A (32 mg) y el Lote B (551 mg) del compuesto del título.

- 5 El desplazamiento químico del Lote A se muestra más abajo. El Lote B es una combinación de tres fracciones al purificar en columna, y se combinaron tras confirmar que el desplazamiento químico de cada fracción es similar al desplazamiento químico del Lote A.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm; 1.01 (3H, d, J=7 Hz), 1.42 (9H, s), 2.05-2.11 (1H, m), 2.16-2.22 (1H, m), 2.65-2.69 (2H, m), 2.97-3.04 (2H, m), 3.70 (1H, d, J=10 Hz), 4.07-4.15 (2H, m), 7.22 (1H, dd, J=8, 9 Hz), 7.35 (2H, d, J=8 Hz).

- 10 (Ejemplo 2l) 2-[(3S,4R)-1-[(2,6-Diclorofenil)-metil]-3-({1-[(4,4-difluorociclohexil)metil]piperidin-4-il}carbamoil)-4-metilpirrolidin-3-il]acetato de terc-butilo

El compuesto del título (409 mg, rendimiento: 92%) se obtuvo a partir de 1-[(4,4-difluorociclohexil)metil]-piperidin-4-amina obtenida en el Ejemplo 2d (201 mg, 0.87 mmoles) y ácido (3S,4R)-3-[2-(terc-butoxi)-2-oxoetil]-1-[(2,6-diclorofenil)metil]-4-metilpirrolidin-3-carboxílico obtenido en el Ejemplo 2k (290 mg, 0.72 mmoles) mediante un método similar al método descrito en el Ejemplo 1k.

- 15

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm; 0.85-0.93 (3H, m), 1.15-2.14 (19H, m), 1.41 (9H, s), 2.57-2.71 (4H, m), 2.92 (1H, t, J=10 Hz), 3.12 (1H, d, J=16 Hz), 3.59-3.72 (2H, m), 3.96 (2H, s), 7.18 (1H, t, J=8 Hz), 7.33 (2H, d, J=8 Hz), 8.11 (1H, d, J=8 Hz).

- 20 (Ejemplo 2m) Ácido 2-[(3S,4R)-1-[(2,6-Diclorofenil)metil]-3-({1-[(4,4-difluorociclohexil)-metil]piperidin-4-il}carbamoil)-4-metilpirrolidin-3-il]acético

El compuesto del título (242 mg, rendimiento: 66%) se obtuvo a partir de 2-[(3S,4R)-1-[(2,6-diclorofenil)-metil]-3-({1-[(4,4-difluorociclohexil)metil]piperidin-4-il}carbamoil)-4-metilpirrolidin-3-il]acetato de terc-butilo obtenido en el Ejemplo 2l (409 mg, 0.66 mmoles) mediante un método similar al método descrito en el Ejemplo 1m.

- 25

RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD) δ ppm; 0.87-0.93 (3H, m), 1.20-2.38 (19H, m), 2.62-2.71 (2H, m), 2.86-3.12 (4H, m), 3.61-3.73 (2H, m), 4.01-4.09 (2H, m), 7.29 (1H, dd, J=8, 9 Hz), 7.43 (2H, d, J=8 Hz).

(Ejemplo 3) Ácido 2-[(3S,4R)-1-[[2-cloro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-3-{{1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il}carbamoil}-4-metilpirrolidin-3-il]acético

(Ejemplo 3a) 4-[(3S,4R)-1-Bencil-3-[2-(terc-butoxi)-2-oxoetil]-4-metilpirrolidin-3-amido]piperidin-1-carboxilato de terc-butilo

- 30 Se añadieron 4-aminopiperidin-1-carboxilato de terc-butilo (849 mg, 4.24 mmoles), trietilamina (1.18 ml, 8.48 mmoles) y PyBOP (2.21 g, 4.24 mmoles) a una disolución de ácido (3S,4R)-1-bencil-3-[2-(terc-butoxi)-2-oxoetil]-4-metilpirrolidin-3-carboxílico obtenido mediante un método similar al del Ejemplo 1j (942 mg, 2.83 mmoles) en N,N-dimetilformamida (20 ml), seguido de agitación a la temperatura ambiente toda la noche. Se añadió acetato de etilo al líquido de la reacción, que se lavó con una disolución acuosa 1 N de hidróxido de sodio y salmuera. Se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice (disolvente de elución: heptano/acetato de etilo) para dar el compuesto del título (1.33 g, rendimiento: 91.1%).

- 40

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm; 0.92 (3H, d, J=7 Hz), 1.20-1.40 (2H, m), 1.40 (9H, s), 1.48 (9H, s), 1.78-1.88 (1H, m), 1.92-1.98 (1H, br), 1.96 (1H, d, J=16 Hz), 2.03-2.09 (1H, m), 2.36 (1H, d, J=10 Hz), 2.58-2.68 (2H, m), 2.89-2.95 (2H, m), 3.10 (1H, d, J=16 Hz), 3.59 (1H, d, J=10 Hz), 3.66 (2H, s), 3.83-4.00 (3H, m), 7.23-7.35 (5H, m), 8.65 (1H, d, J=7 Hz).

MS (ESI) m/z: 538.2 (M+Na)⁺.

(Ejemplo 3b) 4-[(3S,4R)-3-[2-(terc-Butoxi)-2-oxoetil]-4-metilpirrolidin-3-amido]piperidin-1-carboxilato de terc-butilo

- 45 Se añadió hidróxido de paladio al 20% (724 mg) a una disolución de 4-[(3S,4R)-1-bencil-3-[2-(terc-butoxi)-2-oxoetil]-4-metilpirrolidin-3-amido]piperidin-1-carboxilato de terc-butilo obtenido en el Ejemplo 3a (1.33 g, 2.58 mmoles) en metanol (30 ml), que se agitó en una atmósfera de hidrógeno toda la noche. El líquido de la reacción se filtró y se concentró a presión reducida para dar el compuesto del título (1.04 g, rendimiento: 94.7%).

- 50

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm; 0.92 (3H, d, J=7 Hz), 1.20-1.52 (2H, m), 1.41 (9H, s), 1.43 (9H, s), 1.80-2.10 (5H, m), 2.00 (1H, d, J=16 Hz), 2.55-2.61 (1H, m), 2.80-3.06 (2H, m), 2.92 (1H, d, J=10 Hz), 3.12 (1H, d, J=16 Hz), 3.35 (1H, d, J=9 Hz), 3.70 (1H, d, J=10 Hz), 3.80-4.00 (3H, m), 8.30 (1H, d, J=7 Hz).

MS (ESI) m/z: 426.1 (M+H)⁺.

(Ejemplo 3c) 4-[(3S,4R)-3-[2-(terc-butoxi)-2-oxoetil]-1-[[2-cloro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-4-metilpirrolidin-3-amido]piperidin-1-carboxilato de terc-butilo

5 Se añadieron 2-(bromometil)-1-cloro-3-(trifluorometil)benceno (443 mg, 1.62 mmoles) y carbonato de potasio (244 mg) a una disolución de 4-[(3S,4R)-3-[2-(terc-butoxi)-2-oxoetil]-4-metilpirrolidin-3-amido]piperidin-1-carboxilato de terc-butilo obtenido en el Ejemplo 3b (345 mg, 0.811 mmoles) en N,N-dimetilformamida (deshidratada) (10 ml), que se agitó a 45°C durante seis horas, y a 40°C durante dos días. Se añadió acetato de etilo al líquido de la reacción, que se lavó con una disolución acuosa 1 N de hidróxido de sodio y salmuera. Se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice (disolvente de elución: heptano/acetato de etilo) para dar el compuesto del título (320 mg, rendimiento: 63.8%).

10 RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm; 0.92 (3H, d, J=7 Hz), 1.13-1.18 (2H, m), 1.39 (9H, s), 1.49 (9H, s), 1.53-1.65 (1H, m), 1.76-1.86 (1H, m), 1.98 (1H, d, J=16 Hz), 2.02-2.10 (1H, m), 2.51 (1H, d, J=10 Hz), 2.60-2.80 (3H, m), 2.88 (1H, t, J=10 Hz), 3.12 (1H, d, J=16 Hz), 3.53 (1H, d, J=10 Hz), 4.09-4.25 (5H, m), 7.38 (1H, t, J=8 Hz), 7.63 (2H, d, J=8 Hz), 7.96 (1H, d, J=8 Hz).

15 MS (ESI) m/z: 640.2 (M+Na)⁺.

(Ejemplo 3d) Ácido 2-[(3S,4R)-1-[[2-cloro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-4-metil-3-[(piperidin-4-il)carbamoil]pirrolidin-3-il]acético

20 Se añadió ácido trifluoroacético (8 ml) a una disolución de 4-[(3S,4R)-3-[2-(terc-butoxi)-2-oxoetil]-1-[[2-cloro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-4-metilpirrolidin-3-amido]piperidin-1-carboxilato de terc-butilo obtenido en el Ejemplo 3c (320 mg, 0.518 mmoles) en diclorometano (deshidratado) (8 ml) con enfriamiento con hielo, seguido de agitación a la temperatura ambiente durante 2.5 horas. El líquido de la reacción se concentró a presión reducida, y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna ODS (disolvente de elución: agua/metanol) para dar una mezcla que contiene el compuesto del título (344 mg).

25 RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD) δ ppm; 0.83 (3H, d, J=5 Hz), 1.43-1.63 (2H, m), 1.76-1.89 (1H, m), 1.92-2.00 (1H, m), 2.03-2.19 (2H, m), 2.55-2.68 (2H, m), 2.91-3.10 (4H, m), 3.25-3.36 (2H, m), 3.45-3.59 (1H, m), 3.75-4.18 (3H, m), 7.41-7.76 (3H, m).

MS (ESI) m/z: 462.3 (M+H)⁺

(Ejemplo 3e) Ácido 2-[(3S,4R)-1-[[2-cloro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-3-[[1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético

30 Se añadieron ciclohex-1-en-1-carbaldehído (423 μl, 3.73 mmoles), ácido acético (300 μl) y triacetoxiborohidruro de sodio (789 mg, 3.73 mmoles) a una disolución de la mezcla de ácido 2-[(3S,4R)-1-[[2-cloro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-4-metil-3-[(piperidin-4-il)carbamoil]pirrolidin-3-il]acético obtenido mediante el método del Ejemplo 3d (344 mg, 0.745 mmoles) en tetrahidrofurano (deshidratado) (10 ml), seguido de agitación toda la noche. Se añadieron agua y metanol al líquido de la reacción, que se concentró a presión reducida, y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna ODS (disolvente de elución: agua/metanol). El producto purificado se disolvió en diclorometano, se suspendió añadiendo hexano, y se concentró para dar el compuesto del título (180 mg, rendimiento: 43.4%).

40 RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD) δ ppm; 0.89 (3H, d, J=7 Hz), 1.23-1.38 (2H, m), 1.44-1.82 (6H, m), 1.82-1.96 (1H, m), 1.96-2.25 (5H, m), 2.30-2.45 (2H, m), 2.55-2.68 (2H, m), 2.92-3.20 (5H, m), 3.54 (1H, d, J=10 Hz), 3.64-3.78 (1H, m), 3.95 (1H, d, J=10 Hz), 4.05 (1H, d, J=10 Hz), 5.76 (1H, s), 7.47-7.52 (1H, m), 7.72 (1H, d, J=7 Hz), 7.77 (1H, d, J=8 Hz).

MS (ESI) m/z: 578.3 (M+Na)⁺

(Ejemplo 4: Otro método para el compuesto del Ejemplo 3) Ácido 2-[(3S,4R)-1-[[2-cloro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-3-[[1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético

45 (Ejemplo 4a) N-[1-(Ciclohex-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamato de terc-butilo

50 Una mezcla de N-(piperidin-4-il)carbamato de terc-butilo (5.3 g, 26.5 mmoles), 1-ciclohexen-1-carboxaldehído (3.5 g, 31.8 mmoles), triacetoxiborohidruro de sodio (7.29 g, 34.4 mmoles), ácido acético (0.5 ml) y tetrahidrofurano (deshidratado) (80 ml) se agitó a la temperatura ambiente durante 85 horas y 30 minutos. Se añadieron agua y bicarbonato de sodio a la mezcla de reacción, que se agitó y después se extrajo dos veces con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con salmuera y se secó sobre sulfato de sodio anhidro, y el disolvente se separó por destilación. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice (gel de sílice NH, disolvente de elución: acetato de etilo/heptano) para dar el compuesto del título (7.47 g, rendimiento: 95.7%).

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ ppm; 1.35-1.50 (2H, m), 1.44 (9H, s), 1.51-1.65 (4H, m), 1.84-2.03 (8H, m), 2.68-2.80 (4H, m), 3.39-3.50 (1H, m), 4.38-4.48 (1H, m), 5.54 (1H, s).

(Ejemplo 4b) 1-(Ciclohex-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-amina

5 Una mezcla de N-[1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)-piperidin-4-il]carbamato de terc-butilo obtenido en el Ejemplo 4a (7.47 g, 25.4 mmoles), una disolución acuosa 5 N de ácido clorhídrico (25 ml, 125 mmoles) y metanol (100 ml) se agitó a 70°C durante 1.5 horas. La mezcla de reacción se enfrió con hielo, se añadió una disolución acuosa 5 N de hidróxido de sodio (25 ml, 125 mmoles), y el disolvente se separó por destilación. Se añadió agua al residuo, que se extrajo dos veces con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con salmuera y se secó sobre sulfato de sodio anhidro, y el disolvente se separó por destilación para dar el compuesto del título (4.73 g, rendimiento: 95.8%).

10 RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ ppm; 1.30-1.50 (4H, m), 1.51-1.70 (4H, m), 1.75-2.08 (8H, m), 2.59-2.68 (1H, m), 2.72-2.88 (4H, m), 5.55 (1H, s).

(Ejemplo 4c) (3RS,4SR)-3-[2-(terc-Butoxi)-2-oxoetil]-4-metilpirrolidin-1,3-dicarboxilato de 3-(4-metoxifenil)metilo y 1-bencilo

15 Una disolución de (3RS,4SR)-1-bencil-3-[2-(terc-butoxi)-2-oxoetil]-4-metilpirrolidin-3-carboxilato de (4-metoxifenil)metilo obtenido en el Ejemplo 2g (18 g, 39.7 mmoles) en diclorometano (85.7 ml) se ajustó hasta una temperatura interna de 10 hasta 20°C, y se le añadió cloroforniato de bencilo (11.9 ml, 79.4 mmoles). Tras volver a la temperatura ambiente y agitar durante 0.5 horas, la mezcla de reacción se concentró directamente. El producto bruto resultante se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, disolvente de elución: acetato de etilo/heptano) para dar el compuesto del título (12.89 g, rendimiento: 65.3%).

20 RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ ppm; 0.80-0.88 (3H, m), 1.38 (9H, d, J=5 Hz), 2.04-2.15 (1H, m), 2.22 (1H, dd, J=3, 17 Hz), 3.00-3.12 (2H, m), 3.62 (1H, m), 3.79 (3H, d, J=4 Hz), 4.30 (1H, t, J=12 Hz), 5.00-5.16 (4H, m), 6.82-6.86 (2H, m), 7.23-7.39 (8H, m).

(Ejemplo 4d) (3S,4R)-3-[2-(terc-Butoxi)-2-oxoetil]-4-metilpirrolidin-1,3-dicarboxilato de 3-(4-metoxifenil)metilo y 1-bencilo

25 El (3RS,4SR)-3-[2-(terc-butoxi)-2-oxoetil]-4-metilpirrolidin-1,3-dicarboxilato de 3-(4-metoxifenil)metilo y 1-bencilo obtenido en el Ejemplo 4c (12.7 g, 26 mmoles) se resolvió ópticamente de manera repetida mediante HPLC (CHIRALPAK AD-H (2 cm de diámetro \times 25 cm), disolvente de elución: hexano/etanol = 85/15, caudal: 8-10 ml/min.) para dar una forma quiral que corresponde al pico con un tiempo de retención más corto (5.7 g, rendimiento: 44.9%). La forma quiral resultante (5.3 g) se purificó adicionalmente mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice (disolvente de elución; heptano/acetato de etilo) en dos porciones para dar 5.2 g del compuesto del título.

30 RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ ppm; 0.81-0.88 (3H, m), 3.37-3.38 (9H, m), 2.04-2.16 (1H, m), 2.19-2.25 (1H, m), 3.00-3.12 (2H, m), 3.30-3.36 (1H, m), 3.56-3.67 (1H, m), 3.75-3.79 (3H, m), 4.26-4.33 (1H, m), 5.00-5.16 (4H, m), 6.82-6.86 (2H, m), 7.27-7.37 (7H, m).

Análisis mediante HPLC;

35 (Condiciones del análisis) Columna: CHIRALPAK AD-H (fabricada por Daicel Chemical Industries, Ltd.) (0.46 cm de diámetro \times 15 cm), 40°C, eluyente: hexano/etanol = 9/1 (v/v), caudal: 1 ml/min., detección: UV (210 nm)

(Resultado del análisis) La forma quiral purificada se analizó en las condiciones anteriores de análisis para encontrar que el tiempo de retención fue 7.15 minutos y el exceso enantiomérico fue >99% ee.

40 (Ejemplo 4e) (3S,4R)-3-[2-(terc-Butoxi)-2-oxoetil]-4-metilpirrolidin-1,3-dicarboxilato de 3-(4-metoxifenil)metilo y 1-bencilo

El (3RS,4SR)-3-[2-(terc-butoxi)-2-oxoetil]-4-metilpirrolidin-1,3-dicarboxilato de 3-(4-metoxifenil)metilo y 1-bencilo obtenido mediante un método similar al del Ejemplo 4c (7.8 g, 16.5 mmoles) se resolvió ópticamente de manera repetida mediante HPLC (CHIRALPAK AD-H, disolvente de elución: hexano/etanol = 85/15) para dar una forma quiral con un tiempo de retención más corto (3.3 g, rendimiento: 42.3%).

45 (Ejemplo 4f) Ácido (3S,4R)-3-[2-(terc-butoxi)-2-oxoetil]-4-metilpirrolidin-3-carboxílico

50 Se añadieron metanol (70 ml) y Pd al 10%/C (600 mg) a (3S,4R)-3-[2-(terc-butoxi)-2-oxoetil]-4-metilpirrolidin-1,3-dicarboxilato de 3-(4-metoxifenil)metilo y 1-bencilo obtenido mediante el método del Ejemplo 4e (3.3 g, 6.63 mmoles), seguido de agitación a la temperatura ambiente durante tres días en una atmósfera de hidrógeno. Se añadió agua (70 ml) al líquido de la reacción, que se agitó y se filtró. El filtrado se concentró para dar el compuesto del título (1.15 g, rendimiento: 71.3%).

La RMN ¹H (400 MHz, D₂O) fue idéntica a la del compuesto obtenido en el Ejemplo 2j.

(Ejemplo 4g) Ácido (3S,4R)-3-[2-(terc-butoxi)-2-oxoetil]-4-metilpirrolidin-3-carboxílico

5 Se añadieron metanol (3 ml) y Pd al 10%/C (30 mg) a (3S,4R)-3-[2-(terc-butoxi)-2-oxoetil]-4-metilpirrolidin-1,3-dicarboxilato de 3-(4-metoxifenil)metilo y 1-bencilo que se obtuvo en el Ejemplo 4d y que carece de purificación mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice (104 mg, 0.21 mmoles), seguido de agitación a la temperatura ambiente toda la noche en una atmósfera de hidrógeno. Se añadió agua al líquido de la reacción, que se agitó y se filtró. El filtrado se concentró para dar el compuesto del título (48.7 mg, rendimiento: 95.3%).

La RMN ¹H (400 MHz, D₂O) fue idéntica a la del compuesto obtenido en el Ejemplo 2j.

(Ejemplo 4h) Ácido (3S,4R)-3-[2-(terc-butoxi)-2-oxoetil]-4-metilpirrolidin-3-carboxílico

10 Se añadieron metanol (100 ml) y Pd al 10%/C (559 mg) a (3S,4R)-3-[2-(terc-butoxi)-2-oxoetil]-4-metilpirrolidin-1,3-dicarboxilato de 3-(4-metoxifenil)metilo y 1-bencilo obtenido en el Ejemplo 4d (5.2 g, 10.5 mmoles), seguido de agitación a la temperatura ambiente durante ocho horas y 15 minutos en una atmósfera de hidrógeno. Se añadió agua (100 ml) al líquido de la reacción, que se agitó durante una hora y se filtró. El filtrado se concentró. Una combinación (3.2 g, 13.2 mmoles) del residuo y ácido (3S,4R)-3-[2-(terc-butoxi)-2-oxoetil]-4-metilpirrolidin-3-carboxílico obtenido en los Ejemplos 2j, 4f y 4g se suspendió añadiendo metanol (25 ml) y se agitó a la temperatura ambiente durante 30 minutos, y la recolección mediante filtración dio 3.02 g del compuesto del título.

15 RMN ¹H (400 MHz, D₂O) δ ppm; 0.98 (3H, d, J=7 Hz), 1.43 (9H, s), 2.14-2.24 (1H, m), 2.31 (1H, d, J=17 Hz), 2.94 (1H, d, J=17 Hz), 3.06 (1H, t, J=11 Hz), 3.20 (1H, d, J=12 Hz), 3.51 (1H, dd, J=8, 12 Hz), 4.05 (1H, d, J=12 Hz).

20 (Ejemplo 4i) 2-[(3S,4R)-1-[[2-cloro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-3-[[1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acetato de terc-butilo

25 Se añadieron 1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-amina obtenida en el Ejemplo 4b (240 mg, 1.24 mmoles), N,N-dimetilformamida (3 ml), trietilamina (344 μl, 2.47 mmoles) y PyBOP (856 mg, 1.64 mmoles) a ácido (3S,4R)-3-[2-(terc-butoxi)-2-oxoetil]-4-metilpirrolidin-3-carboxílico obtenido en el Ejemplo 4h (200 mg, 0.822 mmoles), seguido de agitación con calentamiento en un baño de aceite a 45°C durante 1.5 horas. Se añadió agua a la mezcla de reacción, que se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró. Se le añadieron 2-(bromometil)-1-cloro-3-(trifluorometil)benceno (247 mg, 0.903 mmoles), carbonato de potasio (170 mg, 1.23 mmoles) y N,N-dimetilformamida (1 ml), seguido de calentamiento con agitación en un baño de aceite a 45°C durante tres horas. Se añadió agua a la mezcla de reacción, que se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con agua y con salmuera, y después se secó sobre sulfato de magnesio. El producto bruto resultante se purificó mediante cromatografía en columna dos veces (gel de sílice NH, disolvente de elución: acetato de etilo/heptano y gel de sílice, disolvente de elución: acetato de etilo/heptano) para dar el compuesto del título (353 mg, rendimiento 70.1%).

35 RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm; 0.91 (3H, d, J=7 Hz), 1.31-1.42 (2H, m), 1.39 (9H, s), 1.54-1.66 (5H, m), 1.81-2.09 (9H, m), 2.53 (1H, d, J=10 Hz), 2.63-2.77 (5H, m), 2.88 (1H, t, J=10 Hz), 3.11 (1H, d, J=16 Hz), 3.56 (1H, d, J=10 Hz), 3.61-3.72 (1H, m), 3.92 (1H, d, J=13 Hz), 3.98 (1H, d, J=13 Hz), 5.54 (1H, s), 7.36 (1H, t, J=8 Hz), 7.62 (1H, d, J=4 Hz), 7.64 (1H, d, J=4 Hz), 7.83 (1H, d, J=8 Hz).

(Ejemplo 4j) Ácido 2-[(3S,4R)-1-[[2-cloro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-3-[[1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético

40 Se añadió ácido trifluoroacético (1.5 ml, 20.3 mmoles) a una disolución de 2-[(3S,4R)-1-[[2-cloro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-3-[[1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acetato de terc-butilo obtenido en el Ejemplo 4i (353 mg, 0.577 mmoles) en diclorometano (400 μl), que se agitó a la temperatura ambiente durante dos horas. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida y se purificó mediante cromatografía en columna ODS (disolvente de elución: metanol/agua) para dar el compuesto del título (215 mg, rendimiento 67%).

45 RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm; 1.01 (3H, d, J=7 Hz), 1.22-1.34 (2H, m), 1.42-1.68 (7H, m), 1.79-2.07 (6H, m), 2.38-2.46 (1H, m), 2.49 (1H, d, J=10 Hz), 2.56 (1H, d, J=14 Hz), 2.67-2.82 (6H, m), 3.00 (1H, t, J=10 Hz), 3.16 (1H, d, J=10 Hz), 3.63-3.76 (1H, m), 3.88 (1H, d, J=14 Hz), 4.01 (1H, d, J=14 Hz), 5.55 (1H, s), 7.40 (1H, t, J=8 Hz), 7.64 (1H, d, J=4 Hz), 7.66 (1H, d, J=4 Hz), 8.56 (1H, d, J=8 Hz)

Rotación específica: [α]_D²⁹ + 37.1 (c 0.11, MeOH)

50 (Ejemplo 5: Otro método para el compuesto del Ejemplo 3) Ácido 2-[(3S,4R)-1-[[2-cloro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-3-[[1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético

(Ejemplo 5a) 4-[(3RS,4SR)-3-[2-(terc-Butoxi)-2-oxoetil]-1-[(2,6-diclorofenil)metil]-4-metilpirrolidin-3-amido]piperidin-1-carboxilato de terc-butilo

5 Se añadió hidróxido de paladio al 20% (300 mg) a una disolución de (3RS,4SR)-1-bencil-3-[2-(terc-butoxi)-2-oxoetil]-4-metilpirrolidin-3-carboxilato de bencilo obtenida mediante un método similar al del Ejemplo 1g (3 g, 7.08 mmoles) en metanol (200 ml), seguido de agitación a la temperatura ambiente toda la noche en una atmósfera de hidrógeno. El líquido de la reacción se filtró y se lavó con metanol. Se añadió agua tibia a alrededor 40°C al producto recogido mediante filtración, para disolver el sólido, seguido de filtración. El filtrado se concentró junto con el primer filtrado para dar una forma desprotegida (1.7 g).

10 Se añadieron metanol (44 ml), 2,6-diclorobenzaldehído (4.83 g, 27.6 mmoles) y ácido acético (1.1 ml, 18.4 mmoles) a la forma desprotegida obtenida mediante un método similar al método anterior (4.47 g, 18.4 mmoles), seguido de agitación a la temperatura ambiente durante 15 minutos, y se añadió triacetoxiborohidruro de sodio (6.16 g, 27.6 mmoles), seguido de calentamiento con agitación a 40°C toda la noche. Se añadió tampón neutro [preparado a partir de dihidrogenofosfato de potasio (13.65 g), hidrogenofosfato de disodio dodecahidratado (71.6 g) y agua (1.5 l)] al líquido de la reacción, se añadieron acetato de etilo y heptano, y la mezcla se filtró. El filtrado se extrajo con acetato de etilo, la capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio y se concentró, y el producto bruto resultante se purificó entonces mediante cromatografía en columna (gel de sílice, disolvente de elución: metanol/acetato de etilo) y se combinó con el producto recogido mediante filtración para dar ácido (3RS,4SR)-3-[2-(terc-butoxi)-2-oxoetil]-1-[(2,6-diclorofenil)metil]-4-metilpirrolidin-3-carboxílico (3.9 g). Se añadieron 4-aminopiperidin-1-carboxilato de terc-butilo (974 mg, 4.89 mmoles), N,N-dimetilformamida (10 ml), trietilamina (1.14 ml, 8.13 mmoles) y PyBOP (2.54 g, 4.89 mmoles) a este compuesto (1.64 g, 4.07 mmoles), seguido de agitación a la temperatura ambiente toda la noche. Se añadió agua al líquido de la reacción, que se extrajo con acetato de etilo, y la capa orgánica se lavó después con agua y salmuera y se secó sobre sulfato de magnesio. El producto bruto obtenido mediante concentración se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice NH, disolvente de elución: acetato de etilo/heptano) para dar el compuesto del título (2.10 g, rendimiento: 88.1%).

25 RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm; 0.91 (3H, d, J=7 Hz), 1.15-1.34 (2H, m), 1.40 (9H, s), 1.49 (9H, s), 1.58-1.70 (2H, m), 1.76-1.84 (1H, br), 1.98 (1H, d, J=16 Hz), 2.03-2.13 (1H, m), 2.54-2.65 (2H, m), 2.66-2.88 (2H, br), 2.92 (1H, t, J=10 Hz), 3.11 (1H, d, J=16 Hz), 3.59 (1H, d, J=10 Hz), 3.81-3.90 (1H, m), 3.95 (2H, s), 3.90-4.07 (2H, br), 7.18 (1H, dd, J=7, 8 Hz), 7.33 (1H, d, J=8 Hz), 8.23 (1H, d, J=8 Hz).

Análisis mediante HPLC;

30 (Condiciones del análisis) Columna: CHIRALPAK IA (fabricada por Daicel Chemical Industries, Ltd.) (0.46 cm de diámetro × 15 cm), 40°C, eluyente: hexano/etanol = 95/5 (v/v), caudal: 1 ml/min., detección: UV (210 nm)

(Resultado del análisis) El compuesto del título resultante se analizó en las condiciones anteriores de análisis, y se observó un pico con un tiempo de retención de 3.46 minutos y un pico con un tiempo de retención de 6.04 minutos.

35 (Ejemplo 5b) 4-[(3S,4R)-3-[2-(terc-Butoxi)-2-oxoetil]-1-[(2,6-diclorofenil)metil]-4-metilpirrolidin-3-amido]piperidin-1-carboxilato de terc-butilo

40 El 4-[(3RS,4SR)-3-[2-(terc-butoxi)-2-oxoetil]-1-[(2,6-diclorofenil)metil]-4-metilpirrolidin-3-amido]piperidin-1-carboxilato de terc-butilo obtenido en el Ejemplo 5a (2.04 g, 3.49 mmoles) se resolvió ópticamente de manera repetida mediante HPLC (CHIRALPAK IA (3 cm de diámetro × 25 cm), disolvente de elución: hexano/etanol = 94/6, caudal: 22 ml/min.) para dar el compuesto del título (una forma quiral que corresponde al pico con un tiempo de retención más corto) (859 mg, 42.1%) y el isómero óptico (una forma quiral que corresponde al pico con un tiempo de retención más largo) (817 mg, 40%), respectivamente.

45 Forma quiral que corresponde al pico con un tiempo de retención más corto; RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm; 0.91 (3H, d, J=7 Hz), 1.15-1.33 (2H, m), 1.40 (9H, s), 1.49 (9H, s), 1.76-1.84 (1H, m), 1.98 (1H, d, J=16 Hz), 2.01-2.11 (1H, m), 2.57 (1H, d, J=10 Hz), 2.57-2.64 (1H, m), 2.69-2.82 (2H, m), 2.92 (1H, t, J=10 Hz), 3.11 (1H, d, J=16 Hz), 3.59 (1H, d, J=10 Hz), 3.80-4.09 (2H, m), 3.95 (2H, s), 7.18 (1H, t, J=8 Hz), 7.33 (2H, d, J=8 Hz), 8.23 (1H, d, J=8 Hz).

Análisis mediante HPLC;

(Condiciones del análisis) Columna: CHIRALPAK IA (fabricada por Daicel Chemical Industries, Ltd.) (0.46 cm de diámetro × 15 cm), 40°C, eluyente: hexano/etanol = 95/5 (v/v), caudal: 1 ml/min., detección: UV (210 nm)

50 (Resultado del análisis) La forma quiral resultante correspondiente al pico con un tiempo de retención más corto se analizó en las condiciones anteriores de análisis para encontrar que el tiempo de retención fue 3.44 minutos y el exceso enantiomérico fue >99% ee.

(Ejemplo 5c) 4-[(3S,4R)-3-[2-(terc-Butoxi)-2-oxoetil]-1-[[2-cloro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-4-metilpirrolidin-3-

amido]piperidin-1-carboxilato de terc-butilo

Se añadió hidróxido de paladio al 20% (75.8 mg) a una disolución de 4-[(3S,4R)-3-[2-(terc-butoxi)-2-oxoetil]-1-[(2,6-diclorofenil)metil]-4-metilpirrolidin-3-amido]piperidin-1-carboxilato de terc-butilo obtenido en el Ejemplo 5b (758 mg, 1.29 mmoles) en metanol (20 ml), seguido de agitación a 40°C durante tres horas en una atmósfera de hidrógeno. El líquido de la reacción se filtró, y el filtrado se concentró para dar un producto bruto (501 mg). Se añadieron 2-(bromometil)-1-cloro-3-(trifluorometil)benceno (145 mg, 0.532 mmoles) y carbonato de potasio (53.2 mg) a una disolución de este producto bruto (174 mg) en N,N-dimetilformamida (deshidratada) (6 ml), seguido de agitación toda la noche. Se añadieron más 2-(bromometil)-1-cloro-3-(trifluorometil)benceno (145 mg, 0.532 mmoles) y carbonato de potasio (106 mg), seguido de agitación durante cuatro horas. Se añadió acetato de etilo al líquido de la reacción, que se lavó con una disolución acuosa 1 N de hidróxido de sodio y salmuera. Se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice (disolvente de elución: heptano/acetato de etilo) para dar el compuesto del título (82 mg, rendimiento: 32.4%).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm; 0.92 (3H, d, J=7 Hz), 1.12-1.18 (2H, m), 1.39 (9H, s), 1.49 (9H, s), 1.53-1.65 (1H, m), 1.76-1.86 (1H, m), 1.98 (1H, d, J=16 Hz), 2.02-2.10 (1H, m), 2.51 (1H, d, J=10 Hz), 2.61-2.81 (3H, m), 2.89 (1H, t, J=10 Hz), 3.12 (1H, d, J=16 Hz), 3.53 (1H, d, J=10 Hz), 3.80-4.10 (5H, m), 7.38 (1H, t, J=8 Hz), 7.63 (2H, d, J=8 Hz), 7.96 (1H, d, J=8 Hz).

MS (ESI) m/z: 618.1 (M+H)⁺

(Ejemplo 5d) Ácido 2-[(3S,4R)-1-[[2-cloro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-4-metil-3-[(piperidin-4-il)carbamoil]pirrolidin-3-il]acético

Se añadió ácido trifluoroacético (3 ml) a una disolución de 4-[(3S,4R)-3-[2-(terc-butoxi)-2-oxoetil]-1-[[2-cloro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-4-metilpirrolidin-3-amido]piperidin-1-carboxilato de terc-butilo obtenido en el Ejemplo 5c (82 mg, 0.133 mmoles) en diclorometano (deshidratado) (3 ml) con enfriamiento con hielo, seguido de agitación a la temperatura ambiente durante 2.5 horas. El líquido de la reacción se concentró a presión reducida, y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna ODS (disolvente de elución: agua/metanol) para dar el compuesto del título (72 mg, rendimiento: cuant.).

RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD) δ ppm; 0.90 (3H, d, J=5 Hz), 1.51-1.70 (2H, m), 1.82-1.91 (1H, m), 1.99-2.08 (1H, m), 2.12-2.23 (2H, m), 2.61 (1H, d, J=9 Hz), 2.60-2.70 (2H, m), 2.95-3.12 (4H, m), 3.25-3.36 (2H, m), 3.53 (1H, d, J=9 Hz), 3.83-3.92 (1H, m), 3.97 (1H, d, J=13 Hz), 4.07 (1H, d, J=13 Hz), 7.51 (1H, t, J=8 Hz), 7.73 (1H, d, J=8 Hz), 7.78 (1H, d, J=8 Hz).

MS (ESI) m/z: 462.2 (M+H)⁺

(Ejemplo 5e) Ácido 2-[(3S,4R)-1-[[2-cloro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-3-[[1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético

Se añadieron ciclohex-1-en-1-carbaldehído (25.9 μl, 0.227 mmoles), ácido acético (30 μl) y triacetoxiborohidruro de sodio (68.8 mg, 0.325 mmoles) a una disolución de ácido 2-[(3S,4R)-1-[[2-cloro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-4-metil-3-[[piperidin-4-il]carbamoil]pirrolidin-3-il]acético obtenido mediante el método del Ejemplo 5d (15 mg, 0.0325 mmoles) en tetrahydrofurano (deshidratado) (2 ml), seguido de agitación toda la noche. Se añadieron agua y metanol al líquido de la reacción, que se concentró a presión reducida, y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna ODS (disolvente de elución: agua/metanol) para dar el compuesto del título (12.8 mg, rendimiento: 70.8%).

RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD) δ ppm; 0.89 (3H, d, J=7 Hz), 1.50-1.90 (2H, m), 1.83-1.95 (1H, m), 2.00-2.22 (5H, m), 2.30-2.45 (2H, m), 2.57-2.68 (2H, m), 2.92-3.14 (5H, m), 3.54 (1H, d, J=10 Hz), 3.64-3.78 (1H, m), 3.95 (1H, d, J=13 Hz), 4.05 (1H, d, J=13 Hz), 5.76 (1H, s), 7.49 (1H, t, J=8 Hz), 7.72 (1H, d, J=8 Hz), 7.77 (1H, d, J=8 Hz).

MS (ESI) m/z: 556.3 (M+H)⁺

(Ejemplo 6) Ácido 2-[(3S,4R)-1-[[2-cloro-6-metil-fenil]metil]-3-[[1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético

(Ejemplo 6a) Ácido (3S,4R)-3-[2-(terc-butoxi)-2-oxoetil]-1-[[2-cloro-6-metilfenil]metil]-4-metilpirrolidin-3-carboxílico

El compuesto del título (154 mg, rendimiento 27.2%) se obtuvo a partir de ácido (3S,4R)-3-[2-(terc-butoxi)-2-oxoetil]-4-metilpirrolidin-3-carboxílico obtenido mediante un método similar al del Ejemplo 1i (360 mg, 1.48 mmoles) y 2-cloro-6-metilbenzaldehído (416 mg, 2.69 mmoles) mediante un método similar al método descrito en el Ejemplo 1j.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm; 1.01 (3H, d, J=7 Hz), 1.41 (9H, s), 2.10 (1H, d, J=17 Hz), 2.15-2.23 (1H, m), 2.42 (3H, s), 2.63-2.69 (2H, m), 2.97 (1H, t, J=10 Hz), 3.01 (1H, d, J=17 Hz), 3.68 (1H, d, J=9 Hz), 4.00 (2H, s), 7.09-7.26 (3H, m).

(Ejemplo 6b) 2-[(3S,4R)-1-[(2-Cloro-6-metilfenil)metil]-3-[[1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acetato de terc-butilo

El compuesto del título (212 mg, rendimiento 94.2%) se obtuvo a partir de ácido (3S,4R)-3-[2-(terc-butoxi)-2-oxoetil]-1-[(2-cloro-6-metilfenil)metil]-4-metilpirrolidin-3-carboxílico obtenido en el Ejemplo 6a (154 mg, 0.403 mmoles) y 1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-amina obtenida en el Ejemplo 4b (110 mg, 0.564 mmoles) mediante un método similar al método descrito en el Ejemplo 1k.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm; 0.92 (3H, d, J=7 Hz), 1.21-1.39 (3H, m), 1.40 (9H, s), 1.52-1.69 (5H, m), 1.81-2.12 (8H, m), 1.99 (1H, d, J=16 Hz), 2.44 (3H, s), 2.52 (1H, d, J=10 Hz), 2.61 (1H, dd, J=6, 9 Hz), 2.68 (2H, br d, J=9 Hz), 2.75 (2H, s), 2.86 (1H, t, J=10 Hz), 3.10 (1H, d, J=16 Hz), 3.58 (1H, d, J=10 Hz), 3.60-3.70 (1H, m), 3.79 (1H, d, J=13 Hz), 3.84 (1H, d, J=13 Hz), 5.54 (1H, s), 7.08-7.14 (2H, m), 7.23-7.26 (1H, m), 8.00 (1H, d, J=8 Hz).

(Ejemplo 6c) Ácido 2-[(3S,4R)-1-[(2-cloro-6-metilfenil)metil]-3-[[1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético

El compuesto del título (140 mg, rendimiento 73.4%) se obtuvo a partir de 2-[(3S,4R)-1-[(2-cloro-6-metil-fenil)metil]-3-[[1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acetato de terc-butilo obtenido en el Ejemplo 6b (212 mg, 0.38 mmoles) mediante un método similar al método descrito en el Ejemplo 1m.

RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD) δ ppm; 0.93 (3H, d, J=7 Hz), 1.57-1.80 (6H, m), 1.90-2.39 (8H, m), 2.49 (3H, s), 2.61-3.38 (8H, m), 3.59-4.20 (4H, m), 5.95 (1H, s), 7.18-7.39 (3H, m).

(Ejemplo 7) Ácido 2-[(3S,4R)-1-[[2-cloro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-3-[[1-(ciclopent-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético

(Ejemplo 7a) Ciclopent-1-en-1-carbaldehído

Una mezcla de peryodato de sodio (28.6 g, 134 mmoles) y agua (250 ml) se añadió a una mezcla de 1,2-ciclohexanodiol (12 g, 103 mmoles) y éter dietílico (150 ml), que se agitó a la temperatura ambiente durante 35 minutos. Se añadió una disolución acuosa de hidróxido de potasio al 20% (40 ml, 206 mmoles) a la mezcla de reacción, que se agitó a la temperatura ambiente durante dos horas. La mezcla de reacción se extrajo dos veces con éter dietílico. La capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, y el disolvente se separó por destilación para dar el compuesto del título (6.1 g, rendimiento 61.6%).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm; 1.96-2.04 (2H, m), 2.50-2.57 (2H, m), 2.58-2.66 (2H, m), 6.87-6.90 (1H, m), 9.80 (1H, s).

(Ejemplo 7b) Ácido 2-[(3S,4R)-1-[[2-cloro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-3-[[1-(ciclopent-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético

El compuesto del título (288 mg, rendimiento: 73.5%) se obtuvo a partir de ácido 2-[(3S,4R)-1-[[2-cloro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-4-metil-3-[[piperidin-4-il]carbamoil]pirrolidin-3-il]acético obtenido en el Ejemplo 3d (334 mg, 0.723 mmoles), ciclopent-1-en-1-carbaldehído obtenido en el Ejemplo 7a (209 mg, 2.17 mmoles), ácido acético (300 μl) y triacetoxiborohidruro de sodio (460 mg, 2.17 mmoles) mediante un método similar al método descrito en el Ejemplo 3e.

RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD) δ ppm; 0.89 (3H, d, J=7 Hz), 1.24-1.35 (2H, m), 1.50-1.66 (2H, m), 1.70-1.78 (1H, m), 1.85-1.99 (3H, m), 2.11-2.22 (2H, m), 2.29-2.42 (4H, m), 2.61 (1H, d, J=10 Hz), 2.60-2.68 (1H, m), 2.91-3.02 (2H, m), 3.07 (1H, d, J=16 Hz), 3.54 (1H, d, J=10 Hz), 3.64-3.78 (1H, m), 3.95 (1H, d, J=14 Hz), 4.05 (1H, d, J=14 Hz), 5.74 (1H, s), 7.50 (1H, t, J=8 Hz), 7.71 (1H, d, J=8 Hz), 7.78 (1H, d, J=8 Hz).

MS (ESI) m/z: 564.3 (M+Na)⁺

(Ejemplo 8) Ácido 2-[(3S,4R)-1-[(2-cloro-6-metilfenil)metil]-3-[[1-(ciclopent-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético

(Ejemplo 8a) 4-[(3S,4R)-3-[(2-terc-Butoxi)-2-oxoetil]-1-[(2-cloro-6-metilfenil)metil]-4-metilpirrolidin-3-amido]piperidin-1-carboxilato de terc-butilo

El compuesto del título (237 mg, rendimiento 91.7%) se obtuvo a partir de ácido (3S,4R)-3-[(2-terc-butoxi)-2-oxoetil]-1-[(2-cloro-6-metilfenil)metil]-4-metilpirrolidin-3-carboxílico obtenido mediante un método similar al método descrito en el Ejemplo 6a (175 mg, 0.458 mmoles) y 4-aminopiperidin-1-carboxilato de terc-butilo (137 mg, 0.684 mmoles) mediante un método similar al método descrito en el Ejemplo 1k.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm; 0.92 (3H, d, J=8 Hz), 1.15-1.30 (2H, m), 1.40 (9H, s), 1.49 (9H, s), 1.58-1.68 (2H, m), 1.78-1.88 (1H, br), 1.99 (1H, d, J=8 Hz), 2.05-2.11 (1H, m), 2.42 (3H, s), 2.50 (1H, d, J=10 Hz), 2.60-2.66 (1H,

m), 2.70-2.81 (2H, br), 2.85 (1H, t, J=10 Hz), 3.10 (1H, d, J=16 Hz), 3.55 (1H, d, J=10 Hz), 3.74-4.10 (4H, m), 7.07-7.15 (2H, m), 7.22-7.27 (1H, m), 8.14 (1H, d, J=8 Hz).

(Ejemplo 8b) Ácido 2-[(3S,4R)-1-[(2-cloro-6-metilfenil)metil]-3-[(1-ciclopent-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético

- 5 Una mezcla de 4-[(3S,4R)-3-[(2-terc-butoxi)-2-oxoetil]-1-[(2-cloro-6-metilfenil)metil]-4-metilpirrolidin-3-amido]piperidin-1-carboxilato de terc-butilo obtenido en el Ejemplo 8a (237 mg, 0.42 mmoles), ácido trifluoroacético (2.3 ml, 31 mmoles) y diclorometano (deshidratado) (2.3 ml) se agitó a la temperatura ambiente durante tres horas y 30 minutos. La mezcla de reacción se concentró, y al residuo resultante se añadieron ciclopent-1-en-1-carbaldehído obtenido en el Ejemplo 7a (121 mg, 1.26 mmoles), trietilamina (0.176 ml, 1.26 mmoles) y tetrahidrofurano (5 ml), seguido de agitación durante 35 minutos. Se añadió triacetoxiborohidruro de sodio (267 mg, 1.26 mmoles) a la mezcla de reacción, que se agitó a la temperatura ambiente durante 13 horas. La mezcla de reacción se concentró, y el residuo resultante se purificó dos veces mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice (gel de sílice ODS, disolvente de elución: agua/metanol) para dar el compuesto del título (88 mg, rendimiento 42.9%).

- 15 RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD) δ ppm; 0.92 (3H, d, J=7 Hz), 1.50-1.68 (2H, br), 1.74-1.83 (1H, br), 1.88-2.00 (3H, m), 2.19-2.30 (2H, m), 2.31-2.43 (6H, m), 2.48 (3H, s), 2.62-2.72 (2H, m), 2.90-3.09 (4H, m), 3.25-3.40 (2H, m), 3.61 (1H, d, J=10 Hz), 3.66-3.78 (1H, m), 3.89-4.06 (2H, m), 5.73 (1H, s), 7.14-7.20 (2H, m), 7.25-7.30 (1H, m).

(Ejemplo 9) Ácido 2-[(3S,4R)-3-[(3S)-1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)pirrolidin-3-il]carbamoil]-1-[(2,6-diclorofenil)metil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético

(Ejemplo 9a) N-[(3S)-1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)pirrolidin-3-il]carbamato de terc-butilo

- 20 Se añadió 1-ciclohexen-1-carboxaldehído (1.48 ml, 13 mmoles) a una mezcla de (3S)-(-)-3-(terc-butoxicarbonilamino)pirrolidina (2.0 g, 10.8 mmoles), ácido acético (1.24 ml, 21.6 mmoles) y tetrahidrofurano (deshidratado) (27 ml), seguido de agitación a la temperatura ambiente durante 15 minutos, y después se añadió triacetoxiborohidruro de sodio (4.58 g, 21.6 mmoles) y la mezcla de reacción se agitó a la temperatura ambiente durante 17 horas y 45 minutos. Una disolución acuosa saturada de bicarbonato de sodio se añadió a la mezcla de reacción, que se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio, y el disolvente se separó por destilación. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice NH (disolvente de elución: acetato de etilo/heptano) para dar el compuesto del título (1.3 g, rendimiento: 42.9%).

- 25 RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm; 1.44 (9H, s), 1.50-1.65 (5H, m), 1.95-2.03 (4H, br), 2.17-2.29 (2H, m), 2.40-2.55 (2H, m), 2.65-2.74 (1H, m), 2.84-2.94 (2H, m), 4.10-4.19 (1H, br), 4.77-4.87 (1H, br), 5.56 (1H, br s).

- 30 (Ejemplo 9b) (3S)-1-(Ciclohex-1-en-1-ilmetil)pirrolidin-3-amina

- Una mezcla de N-[(3S)-1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)pirrolidin-3-il]carbamato de terc-butilo obtenido en el Ejemplo 9a (1.3 g, 4.64 mmoles) y etanol (9.2 ml) se agitó con enfriamiento con hielo, se añadió una disolución acuosa 5 N de ácido clorhídrico (9.28 ml, 46.4 mmoles), y la mezcla de reacción se agitó a la temperatura ambiente durante 14 horas y 30 minutos. La mezcla de reacción se agitó con enfriamiento con hielo, se añadió una disolución acuosa 5 N de hidróxido de sodio (9.28 ml, 46.4 mmoles), y el disolvente se separó por destilación. Se añadió etanol al residuo, el sólido precipitado se separó por filtración, y el disolvente en el filtrado se separó por destilación. Se añadió más etanol al residuo, el sólido precipitado se separó por filtración, y el disolvente en el filtrado se separó por destilación para dar el compuesto del título (0.8 g, rendimiento 95.6%).

- 40 RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD) δ ppm; 1.50-1.68 (6H, m), 1.90-2.05 (3H, m), 2.14-2.23 (1H, m), 2.28-2.32 (1H, m), 2.43-2.49 (1H, m), 2.63-2.73 (2H, m), 2.91-2.98 (2H, m), 3.44-3.50 (1H, m), 5.62 (1H, br s).

(Ejemplo 9c) 2-[(3S,4R)-3-[(3S)-1-(Ciclohex-1-en-1-ilmetil)pirrolidin-3-il]carbamoil]-1-[(2,6-diclorofenil)metil]-4-metilpirrolidin-3-il]acetato de terc-butilo

- 45 El compuesto del título (236 mg, rendimiento 58%) se obtuvo a partir de (3S)-1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)pirrolidin-3-amina obtenida en el Ejemplo 9b (169 mg, 0.94 mmoles) y ácido (3S,4R)-3-[2-(terc-butoxi)-2-oxoetil]-1-[(2,6-diclorofenil)metil]-4-metilpirrolidin-3-carboxílico obtenido en el Ejemplo 2k (290 mg, 0.72 mmoles) mediante un método similar al método descrito en el Ejemplo 1k.

- RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm; 0.91 (3H, d, J=7 Hz), 1.41 (9H, s), 1.50-1.63 (6H, m), 1.87-2.14 (6H, m), 2.20-2.25 (1H, m), 2.33-2.40 (1H, m), 2.51-2.67 (4H, m), 2.79-2.94 (3H, m), 3.11 (1H, d, J=16 Hz), 3.62 (1H, d, J=10 Hz), 3.92-4.02 (2H, m), 4.28-4.38 (1H, m), 5.74 (1H, br s), 7.17 (1H, dd, J=7, 8 Hz), 7.32 (2H, d, J=8 Hz), 8.30 (1H, d, J=7 Hz).

- 50 (Ejemplo 9d) Ácido 2-[(3S,4R)-3-[(3S)-1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)pirrolidin-3-il]carbamoil]-1-[(2,6-diclorofenil)metil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético

El compuesto del título (173 mg, rendimiento 81%) se obtuvo a partir de 2-[(3S,4R)-3-[(3S)-1-(ciclohex-1-en-1-

ilmetil)pirrolidin-3-il]carbamoil}-1-[(2,6-diclorofenil)metil]-4-metilpirrolidin-3-il]acetato de terc-butilo obtenido en el Ejemplo 9c (236 mg, 0.42 mmoles) mediante un método similar al método descrito en el Ejemplo 1m.

RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD) δ ppm; 0.89 (3H, d, J=7 Hz), 1.55-1.67 (4H, m), 1.73-1.84 (1H, m), 1.92-2.32 (7H, m), 2.58-2.68 (2H, m), 2.74-2.85 (2H, m), 2.96-3.15 (4H, m), 3.20-3.34 (2H, m), 3.61 (1H, d, J=10 Hz), 4.00-4.08 (2H, m), 4.18-4.27 (1H, m), 5.74 (1H, br s), 7.29 (1H, dd, J=7, 9 Hz), 7.40-7.44 (2H, m).

(Ejemplo 10) Ácido 2-[(3S,4R)-1-[[2-Cloro-6-(difluorometil)fenil]metil]-3-[(1-hexilpiperidin-4-il)carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético

(Ejemplo 10a) 1-Hexilpiperidin-4-amina

El compuesto del título se obtuvo mediante un método similar al método descrito en el documento US2005/0222175 A1 y en los Ejemplos 4a y 4b.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm: 0.80 (3H, t, J=7 Hz), 1.05-1.45 (12H, m), 1.73 (2H, d, J=6 Hz), 1.88 (2H, t, J=6 Hz), 2.21 (2H, dd, J=6, 8 Hz), 2.52-2.62 (1H, m), 2.79 (2H, d, J=12 Hz)

(Ejemplo 10b) 3-Cloro-2-metilbenzoato de metilo

Se añadió yodometano (1.96 ml, 31.5 mmoles) a una mezcla de ácido 3-cloro-2-metilbenzoico (3.58 g, 21 mmoles), carbonato de potasio (5.8 g, 42 mmoles) y N,N-dimetilformamida (35.9 ml), seguido de agitación a la temperatura ambiente durante 18 horas y 30 minutos. Se añadieron agua y acetato de etilo al líquido de la reacción, y la capa orgánica se extrajo. La capa orgánica se lavó secuencialmente con una disolución acuosa saturada de cloruro de amonio y con salmuera, y después se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice (disolvente de elución: heptano/acetato de etilo) para dar el compuesto del título (3.67 g, rendimiento: 97%).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm; 2.60 (3H, s), 3.91 (3H, s), 7.13-7.21 (1H, m), 7.50 (1H, dd, J=1, 8 Hz), 7.70 (1H, dd, J=1, 8 Hz).

(Ejemplo 10c) 2-(Bromometil)-3-clorobenzoato de metilo

Una suspensión de 3-cloro-2-metilbenzoato de metilo obtenido en el Ejemplo 10b (1 g, 5.42 mmoles), tetracloruro de carbono (13.3 ml), N-bromosuccinimida (1.06 g, 5.96 mmoles) y peróxido de benzoílo (3.5 mg, 0.0108 mmoles) se calentó en un baño de aceite a 90°C en una corriente de nitrógeno. Después de tres horas y 45 minutos, el calentamiento se terminó, y la mezcla se diluyó con agua, acetato de etilo y una disolución acuosa saturada de bicarbonato de sodio. La capa orgánica se lavó con una disolución acuosa saturada de bicarbonato de sodio, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, se filtró y se concentró para dar el compuesto del título (1.43 g, rendimiento: 100%).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm; 4.00 (3H, s), 5.12 (2H, s), 7.32 (1H, t, J=8 Hz), 7.58 (1H, dd, J=2, 8 Hz), 7.86 (1H, dd, J=2, 8 Hz).

(Ejemplo 10d) [2-(Bromometil)-3-clorofenil]metanol

Se añadió diclorometano (10 ml) a 2-(bromometil)-3-clorobenzoato de metilo obtenido en el Ejemplo 10c (500 mg, 1.9 mmoles), se añadió una disolución 1.04 M de hidruro de diisobutilaluminio/n-hexano (4.57 ml, 4.75 mmoles) a -78°C, seguido de agitación durante una hora en una atmósfera de nitrógeno. Se añadió una disolución acuosa saturada de sal de Rochelle y terc-butil metil éter, seguido de extracción con terc-butil metil éter. La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio y después se dejó pasar a través de una almohadilla de gel de sílice. El eluato se concentró para dar el compuesto del título (440 mg, rendimiento 98.3%).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm; 1.82 (1H, t, J=6 Hz), 4.78 (2H, s), 4.85 (2H, d, J=5 Hz), 7.25-7.28 (1H, m), 7.31-7.40 (2H, m).

(Ejemplo 10e) 2-(Bromometil)-3-clorobenzaldehído

Se añadieron diclorometano (15 ml) y dióxido de manganeso (1.69 g, 19.4 mmoles) a [2-(bromometil)-3-clorofenil]metanol obtenido en el Ejemplo 10d (440 mg, 1.87 mmoles), seguido de agitación a la temperatura ambiente toda la noche. Se añadió más dióxido de manganeso (1.2 g, 13.8 mmoles), seguido de calentamiento con agitación a 40°C durante 2.5 horas. La mezcla de reacción se filtró a través de Celite y se lavó con acetato de etilo. El filtrado se concentró a presión reducida, y el producto bruto resultante se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, disolvente de elución: heptano/acetato de etilo = 99/1 → 90/10) para dar el compuesto del título (289 mg, rendimiento 66.2%).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm; 5.13 (2H, s), 7.48 (1H, t, J=8 Hz), 7.66 (1H, dd, J=1, 8 Hz), 7.77 (1H, dd, J=1, 8

Hz), 10.23 (1H, s).

(Ejemplo 10f) 2-(Bromometil)-1-cloro-3-(difluorometil)benceno

Se añadió diclorometano (10 ml) a 2-(bromometil)-3-clorobenzaldehído obtenido en el Ejemplo 10e (289 mg, 1.24 mmoles), se añadió trifluoruro de [bis(2-metoxietil)amino]azufre (457 μ l, 2.48 mmoles) a 0°C, seguido de agitación a la temperatura ambiente durante 1.5 horas en una atmósfera de nitrógeno. Una disolución acuosa saturada de bicarbonato de sodio se añadió a 0°C a la mezcla de reacción, que se extrajo con éter dietílico. La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio y después se concentró. El producto bruto resultante se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, disolvente de elución: heptano/acetato de etilo = 99/1 \rightarrow 95/5) para dar el compuesto del título (238.3 mg, rendimiento 75.2%).

10 RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm; 4.74 (2H, s), 6.93 (1H, t, J=55 Hz), 7.37 (1H, t, J=8 Hz), 7.53 (2H, t, J=8 Hz).

(Ejemplo 10g) Ácido (3RS,4SR)-3-[2-(terc-butoxi)-2-oxoetil]-1-[(2,6-diclorofenil)metil]-4-metilpirrolidin-3-carboxílico

Se añadió hidróxido de paladio al 20% (500 mg) a una disolución de (3RS,4SR)-1-bencil-3-[2-(terc-butoxi)-2-oxoetil]-4-metilpirrolidin-3-carboxilato de bencilo obtenido mediante un método similar al del Ejemplo 1g (8.35 g, 19.7 mmoles) en metanol (200 ml), seguido de agitación a la temperatura ambiente toda la noche en una atmósfera de hidrógeno. La mezcla de reacción se filtró, y el paladio en el papel de filtro se lavó bien con agua caliente a 50°C. El filtrado se concentró y se destiló bien azeotrópicamente con metanol y tolueno para dar un sólido blanco (3.92 g). Se le añadieron metanol (20 ml), 2,6-diclorobenzaldehído (5.64 g, 32.2 mmoles), ácido acético (966 μ l, 16.1 mmoles) y triacetoxiborohidruro de sodio (6.82 g, 32.2 mmoles), seguido de agitación a la temperatura ambiente toda la noche. La mezcla de reacción se calentó adicionalmente con agitación en un baño de agua caliente a 50°C durante tres horas. Se añadieron a la mezcla de reacción tampón neutro [preparado a partir de dihidrogenofosfato de potasio (13.65 g), hidrogenofosfato de disodio dodecahidratado (71.6 g) y agua (1.5 l)] y acetato de etilo, y el sólido se separó por filtración. El sólido en el papel de filtro se lavó con acetato de etilo para dar el compuesto del título como un sólido blanco. El filtrado se extrajo con acetato de etilo, y la capa orgánica se secó después sobre sulfato de sodio, se concentró, se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, disolvente de elución: metanol/acetato de etilo) y se combinó con el sólido en el papel de filtro para dar el compuesto del título (3.77 g, rendimiento 58.2%).

25 RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm; 1.01 (3H, d, J=7 Hz), 1.42 (9H, s), 2.09 (1H, d, J=16 Hz), 2.14-2.24 (1H, m), 2.62-2.69 (2H, m), 2.99 (1H, t, J=10 Hz), 3.02 (1H, d, J=10 Hz), 3.71 (1H, d, J=10 Hz), 4.08 (1H, d, J=12 Hz), 4.12 (1H, d, J=12 Hz), 7.21 (1H, d, J=8 Hz), 7.23 (1H, d, J=8 Hz), 7.37 (1H, d, J=8 Hz).

30 (Ejemplo 10h) 2-[(3S,4R)-1-[(2,6-diclorofenil)metil]-3-[(1-hexilpiperidin-4-il)carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acetato de terc-butilo

Se añadieron 1-hexilpiperidin-4-amina obtenida en el Ejemplo 10a (894 mg, 4.85 mmoles), trietilamina (1.04 ml, 7.46 mmoles), N,N-dimetilformamida (10 ml) y PyBOP (2.52 g, 4.85 mmoles) a ácido (3RS,4SR)-3-[2-(terc-butoxi)-2-oxoetil]-1-[(2,6-diclorofenil)metil]-4-metilpirrolidin-3-carboxílico obtenido en el Ejemplo 10g (1.5 g, 3.73 mmoles), seguido de agitación a la temperatura ambiente toda la noche. Se añadió agua a la mezcla de reacción, que se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con agua y con salmuera, y se secó sobre sulfato de sodio. Se concentró, y el producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice NH, disolvente de elución: acetato de etilo/heptano) para dar un sólido blanco (1.85 g). Éste se resolvió ópticamente mediante HPLC (CHIRALPAK IA (3 cm de diámetro \times 25 cm), disolvente de elución: etanol/hexano = 6/94, caudal: 20 ml/min.) para dar una forma quiral que corresponde al pico con un tiempo de retención más corto (875 mg).

Análisis mediante HPLC;

(Condiciones del análisis) Columna: CHIRALPAK IA (fabricada por Daicel Chemical Industries, Ltd.) (0.46 cm de diámetro \times 15 cm), 40°C, eluyente: hexano/etanol = 9/1 (v/v), caudal: 1 ml/min., detección: UV (210 nm)

(Resultado del análisis) La forma quiral resultante se analizó en las condiciones anteriores de análisis para encontrar que el tiempo de retención fue 4.85 minutos y el exceso enantiomérico fue >99% ee.

(Ejemplo 10i) 2-[(3S,4R)-3-[(1-hexilpiperidin-4-il)carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acetato de terc-butilo

Se añadieron metanol (10 ml) e hidróxido de paladio al 20% (50 mg) a 250 mg de 2-[(3S,4R)-1-[(2,6-diclorofenil)metil]-3-[(1-hexilpiperidin-4-il)carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acetato de terc-butilo obtenido en el Ejemplo 10h, seguido de agitación a la temperatura ambiente durante dos horas en una atmósfera de hidrógeno. La mezcla de reacción se filtró, y el filtrado se concentró para dar el compuesto del título (180 mg).

50 RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm; 0.85-0.90 (3H, m), 1.04 (3H, d, J=6 Hz), 1.25-1.35 (5H, m), 1.42 (9H, s), 1.78-2.10 (6H, m), 2.26-2.50 (4H, m), 2.88-3.05 (3H, m), 3.23 (1H, d, J=13 Hz), 3.29-3.54 (5H, m), 3.55-3.67 (1H, m), 4.17 (1H,

d, J=13 Hz), 4.27-4.40 (1H, br), 7.82-7.92 (1H, br).

(Ejemplo 10j) 2-[(3S,4R)-1-[[2-cloro-6-(difluorometil)fenil]metil]-3-[(1-hexilpiperidin-4-il)carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acetato de terc-butilo

5 Se añadieron N,N-dimetilformamida (400 μ l), 2-(bromometil)-1-cloro-3-(difluorometil)benceno obtenido en el Ejemplo 10f (24.9 mg, 0.0976 mmoles) y carbonato de potasio (20.2 mg, 0.146 mmoles) a 2-[(3S,4R)-3-[(1-hexilpiperidin-4-il)carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acetato de terc-butilo obtenido en el Ejemplo 10i (20 mg, 0.0488 mmoles), seguido de agitación a la temperatura ambiente toda la noche. Se añadieron acetato de etilo y agua a la mezcla de reacción, que se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con salmuera y se secó sobre sulfato de magnesio. Se concentró, y el producto bruto resultante se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice NH, disolvente de elución: heptano/acetato de etilo = 98/2 \rightarrow 80/20) para dar el compuesto del título (14.4 mg, rendimiento 50.2%).

10 RMN 1 H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm; 0.87-0.94 (6H, m), 1.22-1.35 (6H, m), 1.40 (9H, s), 1.40-1.49 (2H, m), 1.68-1.76 (1H, m), 1.77-2.12 (7H, m), 2.24-2.28 (2H, m), 2.54 (1H, d, J=10 Hz), 2.59-2.63 (1H, m), 2.74-2.88 (3H, m), 3.13 (1H, d, J=16 Hz), 3.61 (1H, d, J=10 Hz), 3.61-3.72 (1H, m), 3.91 (1H, d, J=13 Hz), 3.95 (1H, d, J=13 Hz), 6.96 (1H, t, J=55 Hz), 7.35 (1H, t, J=8 Hz), 7.54 (2H, d, J=8 Hz), 7.65 (1H, d, J=8 Hz).

15 (Ejemplo 10k) Ácido 2-[(3S,4R)-1-[[2-cloro-6-(difluorometil)fenil]metil]-3-[(1-hexilpiperidin-4-il)carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético

20 El compuesto del título (13.9 mg, rendimiento 61.5%) se obtuvo a partir de 2-[(3S,4R)-1-[[2-cloro-6-(difluorometil)fenil]metil]-3-[(1-hexilpiperidin-4-il)carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acetato de terc-butilo obtenido mediante un método similar al del Ejemplo 10j (25 mg, 0.0428 mmoles) mediante un método similar al método descrito en el Ejemplo 1m.

RMN 1 H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm; 0.82-0.90 (3H, m), 0.93 (3H, d, J=7 Hz), 1.23-1.34 (6H, m), 1.52-1.64 (2H, m), 1.76-1.98 (4H, m), 2.22-2.44 (4H, m), 2.50-2.78 (5H, m), 2.91 (1H, t, J=8 Hz), 3.22-3.35 (1H, br), 3.36-3.43 (1H, m), 3.70-3.82 (1H, m), 3.92 (1H, d, J=14 Hz), 3.96 (1H, d, J=14 Hz), 7.21 (1H, t, J=55 Hz), 7.30 (1H, t, J=8 Hz), 7.48 (1H, d, J=8 Hz), 7.55 (1H, d, J=8 Hz), 8.92-9.08 (1H, br).

25 (Ejemplo 11) Ácido 2-[(3S,4R)-3-[[1-ciclohex-1-en-1-ilmetil]piperidin-4-il]carbamoil]-1-[(2,6-diclorofenil)metil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético

(Ejemplo 11a) Ácido (3S,4R)-3-[2-(terc-butoxi)-2-oxoetil]-1-[(2,6-diclorofenil)metil]-4-metilpirrolidin-3-carboxílico

30 Se añadieron metanol (3 ml), 2,6-diclorobenzaldehído (431 mg, 2.46 mmoles), ácido acético (73.8 μ l, 1.23 mmoles) y triacetoxiborohidruro de sodio (521 mg, 2.46 mmoles) a ácido (3S,4R)-3-[2-(terc-butoxi)-2-oxoetil]-4-metilpirrolidin-3-carboxílico obtenido mediante un método similar al del Ejemplo 1i (300 mg, 1.23 mmoles), seguido de agitación a la temperatura ambiente durante dos días. Se añadió agua al sistema, que se extrajo con acetato de etilo, y la capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio y se concentró. El producto bruto resultante se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, disolvente de elución: metanol/acetato de etilo) para dar el compuesto del título (180 mg). Por otro lado, tras el reparto, la capa acuosa se concentró y se purificó mediante cromatografía en columna ODS (disolvente de elución, metanol/agua) para recuperar ácido (3S,4R)-3-[2-(terc-butoxi)-2-oxoetil]-4-metilpirrolidin-3-carboxílico (120 mg). El compuesto del título (42.7 mg) se obtuvo llevando a cabo nuevamente una reacción similar usando el material de partida recuperado, y se combinó con el primer compuesto del título (180 mg).

Se confirmó que la RMN 1 H (400 MHz, CDCl₃) era idéntica a la del compuesto obtenido en el Ejemplo 10g.

40 (Ejemplo 11b) 2-[(3S,4R)-{3-[(1-Ciclohex-1-en-1-ilmetil]piperidin-4-il]carbamoil}-1-[(2,6-diclorofenil)metil]-4-metilpirrolidin-3-il]acetato de terc-butilo

El compuesto del título (274 mg, rendimiento 85.8%) se obtuvo a partir de ácido (3S,4R)-3-[2-(terc-butoxi)-2-oxoetil]-1-[(2,6-diclorofenil)metil]-4-metilpirrolidin-3-carboxílico obtenido en el Ejemplo 11a (222 mg, 0.55 mmoles) y 1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-amina obtenida en el Ejemplo 4b (150 mg, 0.772 mmoles) mediante un método similar al método descrito en el Ejemplo 1k.

45 RMN 1 H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm; 0.91 (3H, d, J=8 Hz), 1.31-1.50 (2H, m), 1.42 (9H, s), 1.52-1.72 (5H, m), 1.81-2.12 (9H, m), 2.55-2.70 (4H, m), 2.75 (2H, s), 2.92 (1H, t, J=10 Hz), 3.12 (1H, d, J=16 Hz), 3.60-3.72 (2H, m), 3.96 (2H, s), 5.54 (1H, s), 7.18 (1H, t, J=8 Hz), 7.33 (2H, d, J=8 Hz), 8.09 (1H, d, J=8 Hz).

(Ejemplo 11c) Ácido 2-[(3S,4R)-3-[[1-ciclohex-1-en-1-ilmetil]piperidin-4-il]carbamoil]-1-[(2,6-diclorofenil)metil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético

50 El compuesto del título (169 mg, rendimiento 68.2%) se obtuvo a partir de 2-[(3S,4R)-{3-[(1-ciclohex-1-en-1-ilmetil]piperidin-4-il]carbamoil}-1-[(2,6-diclorofenil)metil]-4-metilpirrolidin-3-il]acetato de terc-butilo obtenido en el

Ejemplo 11b (274 mg, 0.474 mmoles) mediante un método similar al método descrito en el Ejemplo 1m.

RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD) δ ppm; 0.89 (3H, d, J=7 Hz), 1.56-1.75 (6H, m), 1.78-1.94 (2H, m), 2.00-2.26 (6H, m), 2.36-2.48 (2H, m), 2.60-2.64 (1H, m), 2.68 (1H, d, J=10 Hz), 2.95-3.19 (6H, m), 3.62 (1H, d, J=10 Hz), 3.68-3.80 (1H, br), 3.99-4.07 (2H, m), 5.76 (1H, s), 7.29 (1H, t, J=8 Hz), 7.43 (2H, d, J=8 Hz).

5 (Ejemplo 12) Ácido 2-[(3S,4R)-1-[[2-cloro-6-(difluorometil)fenil]metil]-3-[[1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético

(Ejemplo 12a) 4-[(3S,4R)-3-[2-(terc-Butoxi)-2-oxoetil]-1-[[2-cloro-6-(difluorometil)fenil]metil]-4-metilpirrolidin-3-amido]piperidin-1-carboxilato de terc-butilo

10 El 4-[(3S,4R)-3-[2-(terc-butoxi)-2-oxoetil]-4-metilpirrolidin-3-amido]piperidin-1-carboxilato de terc-butilo obtenido en el Ejemplo 3b (375 mg, 0.881 mmoles) se disolvió en N,N-dimetilformamida (7 ml). Se le añadieron carbonato de potasio (304 mg, 2.2 mmoles) y 2-(bromometil)-1-cloro-3-(difluorometil)benceno obtenido mediante un método similar al del Ejemplo 10f (450 mg, 1.76 mmoles), y la mezcla se calentó en un baño de aceite a 45°C durante dos horas. La mezcla de reacción se repartió entre acetato de etilo y una disolución acuosa saturada de cloruro de amonio. La capa orgánica separada se lavó tres veces con una disolución acuosa saturada de cloruro de amonio, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, se filtró y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice (gel de sílice, disolvente de elución: heptano/acetato de etilo) para dar el compuesto del título (332 mg, rendimiento: 62.8%).

20 RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm; 0.92 (3H, d, J=7 Hz), 1.13-1.74 (3H, m), 1.39 (9H, s), 1.49 (9H, s), 1.75-1.87 (1H, m), 2.00 (1H, d, J=16 Hz), 2.04-2.15 (1H, m), 2.52 (1H, d, J=10 Hz), 2.56-2.83 (3H, m), 2.86 (1H, t, J=10 Hz), 3.12 (1H, d, J=10 Hz), 3.57 (1H, d, J=10 Hz), 3.80-4.16 (3H, m), 3.90 (1H, d, J=13 Hz), 3.96 (1H, d, J=13 Hz), 6.93 (1H, t, J=55 Hz), 7.37 (1H, t, J=8 Hz), 7.55 (2H, d, J=8 Hz), 7.77 (1H, d, J=8 Hz).

(Ejemplo 12b) Ácido 2-[(3S,4R)-1-[[2-cloro-6-(difluorometil)fenil]metil]-3-[[1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético

25 Se disolvió 4-[(3S,4R)-3-[2-(terc-butoxi)-2-oxoetil]-1-[[2-cloro-6-(difluorometil)fenil]metil]-4-metilpirrolidin-3-amido]piperidin-1-carboxilato de terc-butilo obtenido en el Ejemplo 12a (332 mg, 0.553 mmoles) en diclorometano (3.0 ml), se le añadió ácido trifluoroacético (3.0 ml), y después la mezcla se dejó reposar a la temperatura ambiente. Después de dos horas y 30 minutos, el líquido de la reacción se concentró y se destiló azeotrópicamente dos veces con diclorometano para dar un intermedio. Se disolvieron 186 mg del intermedio resultante (372 mg) en tetrahidrofurano (5 ml), se añadieron trietilamina (116 µl, 0.831 mmoles) y ciclohex-1-en-1-carbaldehído (91.5 mg, 0.831 mmoles), y la mezcla se dejó reposar a la temperatura ambiente. Después de 30 minutos, se le añadió triacetoxiborohidruro de sodio (176 mg, 0.831 mmoles), y la mezcla se agitó a la temperatura ambiente. Después de 10 horas y 50 minutos, la mezcla se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice (ODS, disolvente de elución: agua/metanol) para dar el compuesto del título (80 mg) como un sólido blanco.

35 RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD) δ ppm; 0.90 (3H, d, J=7 Hz), 1.57-1.75 (6H, m), 1.83-1.96 (2H, m), 2.02-2.13 (4H, m), 2.15-2.27 (1H, m), 2.27 (1H, d, J=16 Hz), 2.46-2.65 (3H, m), 2.61 (1H, d, J=10 Hz), 2.95 (1H, t, J=9 Hz), 2.97 (1H, d, J=16 Hz), 3.03-3.16 (2H, m), 3.20-3.27 (2H, m), 3.50 (1H, d, J=10 Hz), 3.74-3.83 (1H, m), 3.98 (1H, d, J=13 Hz), 4.02 (1H, d, J=13 Hz), 5.78-5.86 (1H, br), 7.26 (1H, t, J=55 Hz), 7.42 (1H, t, J=8 Hz), 7.60 (2H, d, J=8 Hz).

(Ejemplo 13) Ácido 2-[(3S,4R)-1-[[2-cloro-6-(difluorometil)fenil]metil]-3-[[1-(ciclopent-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético

40 El compuesto del título (76 mg) se obtuvo mediante un método similar al método descrito en el Ejemplo 12b usando el intermedio obtenido en el Ejemplo 12b (186 mg) y ciclopent-1-en-1-carbaldehído obtenido en el Ejemplo 7a (79.9 mg, 0.831 mmoles).

45 RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD) δ ppm; 0.90 (3H, d, J=7 Hz), 1.58-1.75 (2H, m), 1.80-2.00 (4H, m), 2.15-2.27 (1H, m), 2.47 (1H, d, J=16 Hz), 2.32-2.42 (4H, m), 2.46-2.65 (3H, m), 2.62 (1H, d, J=10 Hz), 2.95 (1H, t, J=9 Hz), 2.99 (1H, d, J=16 Hz), 3.03-3.16 (2H, m), 3.36-3.43 (2H, m), 3.51 (1H, d, J=10 Hz), 3.73-3.82 (1H, m), 3.98 (1H, d, J=13 Hz), 4.03 (1H, d, J=13 Hz), 5.78-5.83 (1H, br), 7.25 (1H, t, J=55 Hz), 7.43 (1H, t, J=8 Hz), 7.61 (2H, d, J=8 Hz).

(Ejemplo 14) Ácido 2-[(3S,4R)-1-[[2-cloro-6-(difluorometil)fenil]metil]-3-[[1-(ciclohexilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético

(Ejemplo 14a) 1-(Ciclohexilmetil)piperidin-4-amina

50 El compuesto del título se obtuvo mediante un método similar al método descrito en el documento US2005/0222175 A1 y en los Ejemplos 4a y 4b.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm: 0.77-0.87 (2H, m), 1.11-1.49 (8H, m), 1.61-1.80 (5H, m), 1.97 (2H, t, J=12 Hz), 2.14 (2H, d, J=7 Hz), 2.50-2.64 (1H, m), 2.96 (2H, d, J=12 Hz).

(Ejemplo 14b) 2-[(3S,4R)-1-Bencil-3-[[1-(ciclohexilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acetato de terc-butilo

- 5 El compuesto del título (250 mg, rendimiento: 81.4%) se obtuvo a partir de ácido (3S,4R)-1-bencil-3-[2-(terc-butoxi)-2-oxoetil]-4-metilpirrolidin-3-carboxílico obtenido en el Ejemplo 1j (200 mg, 0.6 mmoles) y 1-(ciclohexilmetil)piperidin-4-amina obtenida en el Ejemplo 14a (141 mg, 0.72 mmoles) mediante un método similar al método descrito en el Ejemplo 1k.

10 RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm; 0.80-0.98 (2H, m), 0.92 (3H, d, J=7 Hz), 1.07-2.15 (17H, m), 1.58 (9H, s), 1.95 (1H, d, J=16 Hz), 2.10 (1H, d, J=7 Hz), 2.36 (1H, d, J=10 Hz), 2.55-2.83 (4H, m), 3.08 (1H, d, J=16 Hz), 3.59 (1H, d, J=10 Hz), 3.63-3.77 (1H, m), 3.64 (1H, d, J=13 Hz), 3.69 (1H, d, J=13 Hz), 7.21-7.36 (5H, m), 8.56 (1H, d, J=8 Hz).

(Ejemplo 14c) 2-[(3S,4R)-1-[[2-cloro-6-(difluorometil)fenil]metil]-3-[[1-(ciclohexilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acetato de terc-butilo

- 15 El compuesto del título (198 mg, rendimiento: 67.9%) se obtuvo a partir de 2-[(3S,4R)-1-bencil-3-[[1-(ciclohexilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acetato de terc-butilo obtenido en el Ejemplo 14b (250 mg, 0.489 mmoles) y 2-(bromometil)-1-cloro-3-(difluorometil)benceno obtenido mediante un método similar al del Ejemplo 10f (250 mg, 0.978 mmoles) mediante un método similar al método descrito en el Ejemplo 1l.

20 RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm; 0.78-0.97 (2H, m), 0.91 (3H, d, J=7 Hz), 1.08-2.13 (18H, m), 1.40 (9H, s), 2.00 (1H, d, J=17 Hz), 2.05 (1H, d, J=7 Hz), 2.54 (1H, d, J=10 Hz), 2.61 (1H, dd, J=6, 10 Hz), 2.66-2.77 (2H, m), 2.85 (1H, t, J=10 Hz), 3.60 (1H, d, J=17 Hz), 3.58-3.72 (1H, m), 3.92 (1H, d, J=13 Hz), 3.96 (1H, d, J=13 Hz), 6.97 (1H, t, J=55 Hz), 7.36 (1H, t, J=8 Hz), 7.51-7.58 (2H, m), 7.62 (1H, d, J=8 Hz).

(Ejemplo 14d) Ácido 2-[(3S,4R)-1-[[2-cloro-6-(difluorometil)fenil]metil]-3-[[1-(ciclohexilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético

- 25 El compuesto del título (140 mg, rendimiento: 79.8%) se obtuvo a partir de 2-[(3S,4R)-1-[[2-cloro-6-(difluorometil)fenil]metil]-3-[[1-(ciclohexilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acetato de terc-butilo obtenido en el Ejemplo 14c (194 mg, 0.325 mmoles) mediante un método similar al método descrito en el Ejemplo 1m.

30 RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD) δ ppm; 0.90 (3H, d, J=7 Hz), 0.93-1.06 (2H, m), 1.16-1.40 (4H, m), 1.62-1.83 (8H, m), 1.85-1.98 (2H, m), 2.17-2.28 (1H, m), 2.29 (1H, d, J=16 Hz), 2.41-2.50 (1H, m), 2.56-2.80 (4H, m), 2.90-2.99 (2H, m), 3.10-3.25 (2H, m), 3.49 (1H, d, J=10 Hz), 3.76-3.86 (1H, m), 3.97 (1H, d, J=13 Hz), 4.01 (1H, d, J=13 Hz), 7.28 (1H, t, J=55 Hz), 7.42 (1H, t, J=8 Hz), 7.56-7.63 (2H, m).

(Ejemplo 1 de Referencia) (3RS,4SR)-3-[2-(terc-Butoxi)-2-oxoetil]-4-metilpirrolidin-1,3-dicarboxilato de 1,3-dibencilo

(Ejemplo 1a de Referencia) Ácido (3RS,4SR)-3-[2-(terc-butoxi)-2-oxoetil]-4-metilpirrolidin-3-carboxílico

- 35 Se obtuvieron 44.7 g de (3RS,4SR)-1-bencil-3-[2-(terc-butoxi)-2-oxoetil]-4-metilpirrolidin-3-carboxilato de (4-metoxifenil)metilo mediante un método similar al método descrito en los Ejemplos 2e a 2g. Una parte de este compuesto (20 g, 44.1 mmoles) se disolvió en metanol (316 ml), se añadió Pd al 10%/C (3.93 g), y la atmósfera se sustituyó por hidrógeno gaseoso. La mezcla se agitó a la temperatura ambiente toda la noche, y después se agitó con adición de agua tibia (36°C, 160 ml) durante 30 minutos, y el sólido precipitado se disolvió. El Pd/C se separó por filtración, después el filtrado se concentró de manera que quedaron alrededor de 20 a 40 ml de agua, y se añadió metanol (80 ml) al residuo turbio que contiene agua, que se agitó durante 30 minutos. El sólido precipitado se separó por filtración (Lote A). La RMN ¹H del Lote A se muestra a continuación.

40 El Lote B se obtuvo mediante un método similar usando (3RS,4SR)-1-bencil-3-[2-(terc-butoxi)-2-oxoetil]-4-metilpirrolidin-3-carboxilato de (4-metoxifenil)metilo (21 g, 46.3 mmoles). Tras confirmar que la RMN ¹H del Lote B es idéntica a la RMN ¹H del Lote A, el Lote A y el Lote B se combinaron y se secaron para dar el compuesto del título (9.91 g).

45 RMN ¹H (400 MHz, D₂O) δ ppm; 0.97 (3H, d, J=6 Hz), 1.42 (9H, s), 2.12-2.24 (1H, m), 2.29 (1H, d, J=17 Hz), 2.93 (1H, d, J=17 Hz), 3.04 (1H, t, J=12 Hz), 3.18 (1H, d, J=12 Hz), 3.49 (1H, dd, J=8, 12 Hz), 4.03 (1H, d, J=12 Hz).

(Ejemplo 1b de Referencia) Ácido (3RS,4SR)-1-[(benciloxi)carbonil]-3-[2-(terc-butoxi)-2-oxoetil]-4-metilpirrolidin-3-carboxílico

- 50 Una disolución acuosa 2 N de hidróxido de sodio (20.2 ml) se añadió a una mezcla de ácido (3RS,4SR)-3-[2-(terc-butoxi)-2-oxoetil]-4-metilpirrolidin-3-carboxílico obtenido en el Ejemplo 1a de Referencia (9.84 g, 40.5 mmoles),

acetona (39 ml) y agua (49 ml) con agitación con enfriamiento con hielo (de 0 a 1°C), y la mezcla de reacción se disolvió agitando durante 45 minutos. A la mezcla de reacción se añadieron simultáneamente gota a gota cloroformiato de bencilo (6.35 ml, 44.5 mmoles) y una disolución acuosa 2 N de hidróxido de sodio (22.3 ml) a una temperatura interna de 3.5°C o menor con agitación con enfriamiento con hielo (de 0 a 1°C) durante 20 minutos. El líquido de la reacción se agitó en un baño de hielo y se devolvió gradualmente hasta la temperatura ambiente. Se agitó a la temperatura ambiente toda la noche. Se añadió una disolución acuosa 1 N de hidróxido de sodio (10 ml) al líquido de la reacción con agitación con enfriamiento con hielo (temperatura interna: alrededor de 15°C), y la mezcla se ajustó hasta pH 12. Este líquido de reacción se devolvió hasta la temperatura ambiente y se lavó tres veces añadiendo éter etílico. La capa acuosa se ajustó hasta pH 2 a 3 añadiendo secuencialmente una disolución acuosa 2 N de ácido clorhídrico (20.2 ml) y una disolución acuosa 1 N de ácido clorhídrico (13 ml) con agitación con enfriamiento con hielo (temperatura interna: 5°C o menor). La capa acuosa se devolvió hasta la temperatura ambiente y se extrajo tres veces con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con salmuera, y después se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se concentró. El residuo se disolvió en acetato de etilo, se lavó con agua cuatro veces y después con salmuera, se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se concentró para dar el compuesto del título (14.53 g, rendimiento: 95.1%).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm; 1.02 (3H, t, J=8 Hz), 1.42 (9H, s), 2.14-2.22 (1H, m), 2.27 (1H, d, J=17 Hz), 3.04 (1H, d, J=5, 17 Hz), 3.12-3.19 (1H, m), 3.35 (1H, dd, J=7, 12 Hz), 3.65-3.72 (1H, m), 4.29 (1H, dd, J=7, 12 Hz), 5.09-5.19 (2H, m), 7.26-7.38 (5H, m).

(Ejemplo 1c de Referencia) (3RS,4SR)-3-[2-(terc-Butoxi)-2-oxoetil]-4-metilpirrolidin-1,3-dicarboxilato de 1,3-dibencilo

Se añadió bromuro de bencilo (4.48 ml, 37.7 mmoles) a una mezcla de ácido (3RS,4SR)-1-[(benciloxi)carbonil]-3-[2-(terc-butoxi)-2-oxoetil]-4-metilpirrolidin-3-carboxílico obtenido en el Ejemplo 1b de Referencia (14.5 g, 38.5 mmoles), carbonato de potasio (de 10.6 g, 77 mmoles) y N,N-dimetilformamida (50 ml) con agitación con enfriamiento con hielo (temperatura interna: de 3 a 7°C), y la mezcla se agitó durante una hora, se devolvió hasta la temperatura ambiente y se agitó toda la noche. Se añadió agua al líquido de la reacción, que se extrajo tres veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas se combinaron, se lavaron secuencialmente con una disolución acuosa saturada de cloruro de amonio (cinco veces), con agua (dos veces) y con salmuera, y después se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se concentró para dar el compuesto del título (17.67 g, rendimiento: 98.2%).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm; 0.84-0.89 (3H, m), 1.36-1.39 (9H, m), 2.09-2.18 (1H, m), 2.24 (1H, dd, J=3, 17 Hz), 3.04-3.13 (2H, m), 3.35 (1H, dd, J=8, 12 Hz), 3.59-3.68 (1H, m), 4.32 (1H, t, J=12 Hz), 5.06-5.20 (4H, m), 7.29-7.36 (10H, m).

(Ejemplo 2 de Referencia) Ácido (3S,4R)-3-[2-(terc-butoxi)-2-oxoetil]-4-metilpirrolidin-3-carboxílico

(Ejemplo 2a de Referencia) (-)-Dibenzoil-L-tartrato de (3R,4R)-1-bencil-4-metilpirrolidin-3-carboxilato de (4-metoxifenil)metilo

El (3RS,4RS)-1-bencil-4-metilpirrolidin-3-carboxilato de (4-metoxifenil)metilo obtenido separadamente mediante un método similar al método descrito en el Ejemplo 2f (1000 mg, 2.946 mmoles) se disolvió en metil isobutil cetona (4 ml), y se añadió ácido (-)-dibenzoil-L-tartárico (1055 mg) y se disolvió. A la disolución resultante se añadieron cristales obtenidos de (3RS,4RS)-1-bencil-4-metilpirrolidin-3-carboxilato de (4-metoxifenil)metilo obtenido separadamente mediante un método similar al del Ejemplo 2f y ácido (-)-dibenzoil-L-tartárico como cristales de siembra, y el precipitado resultante se separó por filtración para dar el compuesto del título (757 mg, rendimiento: 36.8%). Se añadió etanol (3.02 ml) a 755 mg del sólido resultante, que se calentó y se disolvió, y después se añadió terc-butil metil éter (6.04 ml). El precipitado resultante se separó por filtración para dar el compuesto del título (658 mg, rendimiento: 87.2%) como cristales.

El (3RS,4RS)-1-bencil-4-metilpirrolidin-3-carboxilato de (4-metoxifenil)metilo obtenido separadamente mediante un método similar al método descrito en el Ejemplo 2f (150.0 g, 441 mmoles) se disolvió en metil isobutil cetona (600 ml), y se añadió ácido (-)-dibenzoil-L-tartárico (157.0 g) y se disolvió con agitación. El (-)-dibenzoil-L-tartrato de (3R,4R)-1-bencil-4-metilpirrolidin-3-carboxilato de (4-metoxifenil)metilo obtenido mediante el método descrito en el párrafo anterior se añadió a la disolución resultante como cristales de siembra (7.5 mg), seguido de agitación durante 18 horas y 18 minutos. El sólido precipitado se separó por filtración y se lavó con metil isobutil cetona (150 ml). El sólido resultante se secó a presión reducida a 50°C para dar el compuesto del título (152.07 g, rendimiento: 49.4%). Se añadió etanol (600 ml) a 150.00 g del sólido resultante, que se calentó hasta 80°C con agitación, y se confirmó la disolución del sólido, después de lo cual se detuvo el calentamiento. Cincuenta y nueve minutos después de detener el calentamiento, se añadió terc-butil metil éter (300 ml) durante nueve minutos; después de otros seis minutos, se añadieron cristales de siembra (5 mg). Después de 12 minutos, se añadió terc-butil metil éter (900 ml) durante dos horas y 38 minutos, seguido de agitación durante otras 10 horas y 43 minutos. El sólido precipitado se separó por filtración y se lavó con una mezcla de etanol y terc-butil metil éter (75 ml + 150 ml). El sólido resultante se secó a presión reducida a 50°C para dar el compuesto del título (106.40 g, rendimiento: 70.9%).

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm; 1.05 (3H, d, J=6 Hz), 2.32-2.45 (2H, m), 2.64-2.78 (1H, m), 2.92-3.12 (3H, m), 3.75 (3H, s), 3.80-3.94 (2H, m), 5.04 (2H, dd, J=12, 16 Hz), 5.77 (2H, s), 6.90-6.96 (2H, m), 7.26-7.38 (7H, m), 7.52-7.58 (4H, m), 7.66-7.72 (2H, m), 7.95-8.05 (2H, m).

Análisis mediante HPLC;

- 5 (Condiciones del análisis) Columna: CHIRALCEL OJ-H (fabricada por Daicel Chemical Industries, Ltd.) (0.46 cm de diámetro × 25 cm), eluyente: hexano/etanol/dietilamina = 850/150/1 (v/v/v), caudal: 1 ml/min., detección: UV (226 nm)

10 (Resultado del análisis) El compuesto del título resultante se analizó en las condiciones anteriores de análisis, y se observó un pico con un tiempo de retención de 8.62 minutos (exceso enantiomérico: 98.0% ee) y un pico con un tiempo de retención de 10.9 minutos.

(Ejemplo 2b de Referencia) (3R,4R)-1-Bencil-4-metilpirrolidin-3-carboxilato de (4-metoxifenil)metilo

15 Se añadió acetato de etilo (900 ml) a (-)-dibenzoil-L-tartrato de (3R,4R)-1-bencil-4-metilpirrolidin-3-carboxilato de (4-metoxifenil)metilo obtenido en el Ejemplo 2a de Referencia (104.0 g), y se añadió con agitación una disolución acuosa 1 N de hidróxido de sodio (600 ml). La capa acuosa se desechó, y la capa orgánica se lavó dos veces con agua (100 ml, 50 ml). La capa orgánica resultante se concentró a presión reducida a 50°C para dar el compuesto del título (49.8 g, rendimiento: 98.5%).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm; 1.12 (3H, d, J=7 Hz), 2.19 (1H, dd, J=6, 9 Hz), 2.44-2.62 (2H, m), 2.73-2.84 (2H, m), 2.85-2.92 (1H, m), 3.55 (1H, d, J=13 Hz), 3.63 (1H, d, J=13 Hz), 3.81 (3H, s), 5.02-5.10 (2H, m), 6.85-6.90 (2H, m), 7.21-7.33 (7H, m).

20 (Ejemplo 2c de Referencia) Ácido (3S,4R)-3-[2-(terc-butoxi)-2-oxoetil]-4-metilpirrolidin-3-carboxílico

25 Se añadió tetrahidrofurano (200 ml) a (3R,4R)-1-bencil-4-metilpirrolidin-3-carboxilato de (4-metoxifenil)metilo obtenido en el Ejemplo 2b de Referencia (29.50 g, 87 mmoles), seguido de deshidratación azeotrópica. Se añadió más tetrahidrofurano (200 ml), seguido de deshidratación azeotrópica. Se añadió tetrahidrofurano (400 ml) a este producto, que se enfrió en un baño de hielo seco-etanol, y se añadió durante 27 minutos una disolución de diisopropilamido de litio/n-hexano-tetrahidrofurano (129 ml, 1.11 M, 144 mmoles). Después de 30 minutos, se añadió durante siete minutos una disolución de bromoacetato de terc-butilo (21.20 g, 144 mmoles) en tetrahidrofurano (30 ml). Después de 39 minutos, se añadió una disolución acuosa de cloruro de amonio al 20% (440 ml), y se añadió más acetato de etilo (440 ml) para llevar a cabo la extracción. La capa orgánica resultante se lavó con agua dos veces (60 ml, 60 ml) y se concentró a presión reducida a 30°C. Se añadieron metanol (150 ml) e hidróxido de paladio (885 mg) al concentrado resultante, seguido de agitación bajo presión de hidrógeno (0.35 MPa) durante siete horas y 20 minutos. Se añadieron agua (200 ml) y tetrahidrofurano (100 ml) al líquido de la reacción, seguido de filtración, y el catalizador se lavó secuencialmente con metanol (50 ml) y agua (50 ml × 2). Los lavados del filtro se concentraron a presión reducida a 50°C, la capa acuosa resultante se lavó con terc-butil metil éter (100 ml), y la capa acuosa se concentró a presión reducida a 50°C después de lavar. Se añadió metanol (150 ml) al residuo resultante, y la mezcla se trató ultrasónicamente y después se filtró. El sólido resultante se secó a presión reducida a 50°C para dar el compuesto del título (8.16 g, rendimiento: 38.5%).

35 RMN ¹H (400 MHz, D₂O) δ ppm; 1.00 (3H, d, J=7 Hz), 1.45 (9H, s), 2.16-2.28 (1H, m), 2.33 (1H, d, J=17 Hz), 2.97 (1H, d, J=17 Hz), 3.08 (1H, t, J=12 Hz), 3.22 (1H, d, J=12 Hz), 3.50-3.58 (1H, m), 4.07 (1H, d, J=12 Hz).

40 (Ejemplo 3 de Referencia) Solvato de etanol e hidrogenofosfato de (R)-(-)-1,1'-binaftil-2,2'-diilo del ácido (3S,4R)-3-[2-(terc-butoxi)-2-oxoetil]-4-metilpirrolidin-3-carboxílico

45 El ácido (3RS,4SR)-3-[2-(terc-butoxi)-2-oxoetil]-4-metilpirrolidin-3-carboxílico obtenido mediante un método similar al del Ejemplo 1a de Referencia (500 mg), hidrogenofosfato de (R)-(-)-1,1'-binaftil-2,2'-diilo (359 mg), etanol (10.0 ml) y agua (10.0 ml) se añadieron secuencialmente a un matraz de fondo redondo de 50 ml, seguido de agitación a la temperatura ambiente durante alrededor de 22 horas. El sólido precipitado se recogió mediante filtración y se lavó con una mezcla 1:1 de etanol-agua (2 ml). El producto húmedo se secó a presión reducida a 40°C durante alrededor de una hora para dar el compuesto del título (269 mg, rendimiento: 20.5%).

50 RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm; 0.88 (3H, d, J=7 Hz), 1.06 (3H, t, J=7 Hz), 1.38 (9H, s), 2.09-2.16 (1H, m), 2.44 (1H, d, J=18 Hz), 2.74 (1H, t, J=12 Hz), 2.87 (1H, d, J=18 Hz), 3.11 (1H, d, J=12 Hz), 3.41-3.47 (2H, m), 3.81 (1H, d, J=12 Hz), 4.36 (1H, t, J=5 Hz), 7.21 (2H, d, J=9 Hz), 7.28-7.31 (2H, t, J=8 Hz), 7.38-7.45 (4H, m), 8.02 (4H, t, J=8 Hz).

En una vasija de vidrio de rosca se pesaron 8.85 mg del sólido blanco anterior. Se le añadieron 0.2 ml de agua MilliQ y 0.8 ml de etanol al 99.5%. Después, se dividió por igual en tres porciones en viales de 1.5 ml de LCMS, y los viales se cerraron de forma no apretada y se dejaron reposar a la temperatura ambiente. Después de nueve días, se

observaron cristales que precipitaron en los viales. Se llevó a cabo un experimento de difracción de rayos X con un aparato R-AXIS RAPID II (Rigaku Corporation) usando los cristales individuales resultantes (0.40 x 0.40 x 0.06 mm). Los datos cristalográficos y los resultados del análisis estructural se muestran en la Tabla 1, y los datos de coordenadas atómicas se muestran en las Tablas 2 a 4. A partir de tales resultados, se especificó la estructura absoluta del compuesto del título.

5

[Tabla 1]

Temperatura	296 K
Longitud de onda	1.5418 Å
Sistema cristalino, grupo espacial	Sistema monoclinico, P2 ₁
Parámetro de la red cristalina	a = 12.8692 (4) Å
	b = 10.9651 (3) Å
	c = 23.8299 (7) Å
	β = 95.637 (2) ^o
Volumen	3346.4 (2) Å ³
Valor Z, densidad calculada	4, 1.357 g/cm ³
Coefficiente de absorción	12.406 cm ⁻¹
Tamaño del cristal size	0.40 x 0.40 x 0.06 mm
2 θ medido máximo	136.5 ^o
Número total de reflexiones/ número de reflexiones únicas	35631/11955 [R (Resistencia)=0.0631]
Porcentaje de terminación	98.5%
Disolución de la estructura	Método directo (SIR92)
Refinamiento	Método de mínimos cuadrados para F ²
Datos/parámetro	11955/835
Idoneidad del indicador del ajuste	1.103
Factor R (todos los datos)	0.0739
Factor R (I > 2 σ (I))	0.0477
Parámetro Flack	-0.00 (3)
Diferencia entre los picos máximos y mínimos	0.43 y -0.40 e/Å ³

[Tabla 2]

	X	z	y	U (eq)
P1	-0.30549 (7)	0.02152 (8)	0.50227 (4)	3.88 (2)
P2	0.27020 (8)	0.29225 (8)	0.07402 (5)	4.25 (2)
O1	-0.3526 (2)	0.1284 (2)	0.52810 (1)	4.36 (6)
O2	-0.3275 (2)	-0.1009 (2)	0.5232 (2)	4.78 (6)
O3	-0.1819 (2)	0.0485 (3)	0.5071 (1)	4.17 (5)
O4	-0.3345 (2)	0.0201 (3)	0.4358 (1)	4.33 (5)
O5	0.3291 (3)	0.3968 (3)	0.0554 (2)	5.68 (7)
O6	0.3241 (3)	0.1735 (3)	0.0789 (2)	5.81 (7)
O7	0.1636 (2)	0.2859 (3)	0.0336 (1)	4.07 (5)
O8	0.2280 (2)	0.3167 (3)	0.1343 (1)	4.30 (5)

ES 2 564 732 T3

09	0.4552 (3)	-0.0428 (3)	0.0300 (2)	5.31 (7)
010	0.3598 (3)	-0.0464 (3)	0.1033 (1)	4.86 (6)
011	0.5908 (3)	-0.1764 (4)	0.1547 (2)	7.02 (9)
012	0.5024 (3)	-0.2371 (3)	0.2258 (2)	5.75 (7)
013	0.2710 (3)	-0.1574 (3)	0.4519 (2)	5.39 (7)
014	0.4273 (2)	-0.0998 (3)	0.4927 (2)	5.64 (7)
015	0.3547 (3)	-0.0085 (4)	0.3501 (2)	7.00 (9)
016	0.1998 (2)	0.0539 (3)	0.3086 (1)	5.14 (6)
017	0.5245 (4)	-0.5826 (4)	0.1062 (2)	8.6 (1)
018	0.417 (1)	0.432 (1)	0.3597 (7)	27.9 (7)
N1	0.4848 (4)	-0.2939 (4)	-0.0160 (2)	5.49 (9)
N2	0.4327 (4)	0.1896 (4)	0.5073 (2)	4.89 (8)
C1	-0.1225 (3)	-0.0260 (4)	0.4752 (2)	4.06 (8)
C2	-0.1255 (3)	-0.0052 (4)	0.4183 (2)	4.19 (8)
C3	-0.0719 (3)	-0.0909 (4)	0.3854 (2)	4.69 (9)
C4	-0.0791 (4)	-0.0875 (5)	0.3263 (2)	5.8 (1)
C5	-0.0310 (5)	-0.1735 (6)	0.2967 (3)	7.8 (2)
C6	0.0283 (6)	-0.2649 (6)	0.3240 (4)	8.6 (2)
C7	0.0370 (4)	-0.2729 (5)	0.3811 (3)	7.3 (2)
C8	-0.0124 (3)	-0.1871 (4)	0.4143 (3)	5.2 (1)
C9	-0.0085 (4)	-0.1966 (5)	0.4725 (3)	5.6 (1)
C10	-0.0627 (3)	-0.1192 (4)	0.5031 (2)	5.00 (9)
C11	-0.2906 (3)	0.1083 (4)	0.4029 (2)	4.33 (8)
C12	-0.1878 (3)	0.0971 (4)	0.3927 (2)	4.21 (8)
C13	-0.1444 (3)	0.1916 (4)	0.3603 (2)	4.43 (8)
C14	-0.0375 (4)	0.1966 (4)	0.3516 (2)	5.27 (9)
C15	0.0028 (4)	0.2881 (5)	0.3224 (3)	6.5 (2)
C16	-0.0635 (5)	0.3792 (5)	0.2969 (3)	6.9 (2)
C17	-0.1655 (5)	0.3780 (5)	0.3048 (3)	6.7 (2)
C18	-0.2101 (4)	0.2867 (5)	0.3367 (2)	5.21 (9)
C19	-0.3152 (4)	0.2885 (5)	0.3465 (2)	6.1 (1)
C20	-0.3559 (4)	0.2021 (5)	0.3796 (2)	5.7 (1)
C21	0.0837 (3)	0.2113 (4)	0.0497 (2)	3.85 (7)
C22	0.0252 (3)	0.2484 (3)	0.0923 (2)	3.49 (7)
C23	-0.0515 (3)	0.1662 (3)	0.1095 (2)	3.81 (7)
C24	-0.1043 (3)	0.1861 (4)	0.1576 (2)	4.44 (8)
C25	-0.1780 (4)	0.1049 (5)	0.1724 (2)	5.8 (1)
C26	-0.2030 (5)	0.0004 (5)	0.1398 (3)	6.9 (2)
C27	-0.1507 (4)	-0.0222 (5)	0.0945 (3)	6.4 (2)
C28	-0.0720 (4)	0.0561 (4)	0.0784 (2)	4.68 (9)
C29	-0.0149 (4)	0.0295 (4)	0.0330 (2)	5.6 (1)

ES 2 564 732 T3

C30	0.0637 (4)	0.1038 (4)	0.0199 (2)	5.28 (9)
-----	------------	------------	------------	----------

[Tabla 3]

C31	0.1477 (3)	0.4005 (4)	0.1378 (2)	3.83 (7)
C32	0.0475 (3)	0.3697 (3)	0.1190 (2)	3.36 (7)
C33	-0.0330 (3)	0.4594 (4)	0.1223 (2)	3.65 (7)
C34	-0.1383 (3)	0.4398 (4)	0.1003 (2)	4.30 (8)
C35	-0.2124 (4)	0.5278 (5)	0.1034 (2)	5.5 (1)
C36	-0.1866 (5)	0.6406 (5)	0.1268 (3)	6.4 (2)
C37	-0.0872 (5)	0.6641 (4)	0.1475 (3)	6.3 (2)
C38	-0.0064 (4)	0.5749 (4)	0.1465 (2)	4.69 (8)
C39	0.0979 (4)	0.5978 (4)	0.1669 (2)	5.5 (1)
C40	0.1740 (4)	0.5145 (4)	0.1631 (2)	5.02 (9)
C41	0.5212 (4)	-0.2809 (4)	0.0451 (2)	4.50 (8)
C42	0.4249 (3)	-0.2360 (3)	0.0731 (2)	3.50 (7)
C43	0.3342 (4)	-0.2979 (4)	0.0362 (2)	4.49 (8)
C44	0.3695 (4)	-0.2987 (6)	-0.0228 (2)	6.5 (2)
C45	0.4161 (3)	-0.0981 (4)	0.0671 (2)	3.91 (7)
C46	0.4261 (3)	-0.2755 (4)	0.1337 (2)	3.94 (7)
C47	0.5158 (4)	-0.2244 (4)	0.1718 (2)	4.42 (8)
C48	0.2262 (4)	-0.2444 (5)	0.0384 (2)	6.1 (1)
C49	0.5829 (4)	-0.1967 (7)	0.2712 (2)	6.9 (2)
C50	0.6778 (5)	-0.2758 (8)	0.2683 (4)	11.6 (3)
C51	0.5293 (6)	-0.2179 (9)	0.3237 (3)	11.8 (3)
C52	0.6039 (6)	-0.0633 (8)	0.2658 (3)	10.2 (2)
C53	0.4024 (3)	0.1337 (4)	0.4509 (2)	4.17 (8)
C54	0.3066 (3)	0.0503 (3)	0.4574 (2)	3.28 (6)
C55	0.2645 (3)	0.1071 (4)	0.5115 (2)	4.11 (7)
C56	0.3633 (4)	0.1414 (5)	0.5485 (2)	5.27 (9)
C57	0.3424 (3)	-0.0754 (3)	0.4684 (2)	3.97 (7)
C58	0.2247 (3)	0.0656 (4)	0.4074 (2)	3.86 (7)
C59	0.2682 (4)	0.0315 (4)	0.3529 (2)	4.59 (8)
C60	0.1912 (4)	0.0265 (5)	0.5417 (2)	6.3 (1)
C61	0.2251 (4)	0.0340 (5)	0.2506 (2)	5.5 (1)
C62	0.3176 (5)	0.1142 (6)	0.2394 (3)	8.1 (2)
C63	0.2454 (5)	-0.1016 (6)	0.2416 (2)	7.2 (2)
C64	0.1280 (5)	0.0737 (7)	0.2156 (2)	8.6 (2)
C65	0.528 (1)	-0.615 (1)	0.1682 (6)	15.5 (4)
C66	0.566 (2)	-0.715 (2)	0.1763 (6)	18.6 (5)
C67	0.294 (2)	0.503 (2)	0.3239 (6)	20.9 (6)
C68	0.285 (2)	0.370 (2)	0.3574 (6)	19.7 (6)

ES 2 564 732 T3

H1	0.5162	-0.2306	-0.0325	8.23
H2A	0.4928	0.1800	0.5194	7.43
H2B	0.4204	0.2798	0.5013	8.18
H4	-0.1173	-0.0257	0.3071	6.91
H5	0.4183	0.3988	0.0833	9.66
H5A	-0.0381	-0.1706	0.2575	9.35
H6	0.0623	-0.3213	0.3030	10.32
H7	0.0762	-0.3357	0.3988	8.73
H9	0.0372	-0.2466	0.4886	6.92
H10	-0.0604	-0.1277	0.5420	6.00
H13	0.2937	-0.2206	0.4609	5.92
H14	0.0067	0.1351	0.3665	6.33
H15	0.0742	0.2910	0.3191	7.77
H16	-0.0369	0.4395	0.2749	8.32
H17	-0.2082	0.4395	0.2887	8.08

[Tabla 4]

H19	-0.3584	0.3496	0.3303	7.37
H20	-0.4257	0.2053	0.3865	6.80
H24	-0.0892	0.2550	0.1796	5.33
H25	-0.2118	0.1192	0.2045	7.00
H26	-0.2550	-0.0525	0.1493	8.25
H27	-0.1672	-0.0919	0.0732	7.65
H29	-0.0309	-0.0400	0.0115	6.67
H30	0.1039	0.0826	-0.0090	6.34
H34	-0.1572	0.3655	0.0834	5.16
H35	-0.2811	0.5119	0.0896	6.63
H36	-0.2378	0.7001	0.1283	7.71
H37	-0.0708	0.7405	0.1628	7.58
H39	0.1150	0.6728	0.1835	6.60
H40	0.2425	0.5317	0.1769	6.02
H41A	0.5777	-0.2223	0.0506	5.40
H41B	0.5455	-0.3586	0.0609	5.40
H43	0.3313	-0.3830	0.0486	5.38
H44A	0.3457	-0.3723	-0.0427	7.84
H44B	0.3413	-0.2287	-0.0441	7.84
H46A	0.3612	-0.2504	0.1478	4.73
H46B	0.4292	-0.3638	0.1354	4.73
H48A	0.1754	-0.2967	0.0184	7.27
H48B	0.2233	-0.1651	0.0211	7.27
H48C	0.2114	-0.2372	0.0770	7.27

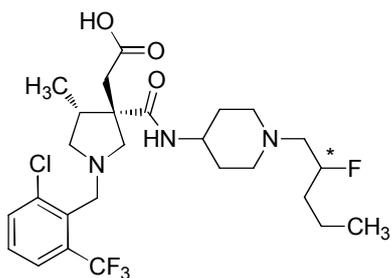
ES 2 564 732 T3

H50A	0.6611	-0.3584	0.2771	13.90
H50B	0.7332	-0.2470	0.2950	13.90
H50C	0.6998	-0.2722	0.2310	13.90
H51A	0.5307	-0.1442	0.3454	14.10
H51B	0.5649	-0.2814	0.3457	14.10
H51C	0.4582	-0.2417	0.3134	14.10
H52A	0.6571	-0.0513	0.2408	12.22
H52B	0.6270	-0.0302	0.3022	12.22
H52C	0.5411	-0.0226	0.2509	12.22
H53A	0.4591	0.0845	0.4392	5.00
H53B	0.3857	0.1966	0.4228	5.00
H55	0.2271	0.1828	0.5009	4.93
H56A	0.3491	0.2033	0.5759	6.32
H56B	0.3940	0.0708	0.5683	6.32
H58A	0.1662	0.0127	0.4131	4.64
H58B	0.1992	0.1488	0.4048	4.64
H60A	0.1278	0.0136	0.5177	7.56
H60B	0.1754	0.0656	0.5759	7.56
H60C	0.2241	-0.0506	0.5505	7.56
H62A	0.3110	0.1922	0.2570	9.71
H62B	0.3190	0.1250	0.1995	9.71
H62C	0.3813	0.0759	0.2548	9.71
H63A	0.2688	-0.1136	0.2050	8.68
H63B	0.1821	-0.1466	0.2443	8.68
H63C	0.2981	-0.1297	0.2700	8.68
H64A	0.1146	0.1581	0.2229	10.35
H64B	0.0701	0.0253	0.2250	10.35
H64C	0.1370	0.0633	0.1764	10.35

Las estructuras absolutas de los compuestos de los Ejemplos 1 a 14 se especifican y se nombran basándose en la información obtenida en el Ejemplo 3 de Referencia.

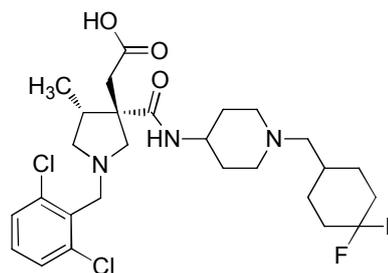
Las fórmulas estructurales de los Compuestos 1 a 8 de los Ejemplos son las siguientes.

5 [Fórmula Química 13]

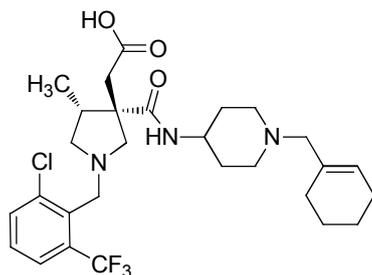


Ejemplo 1

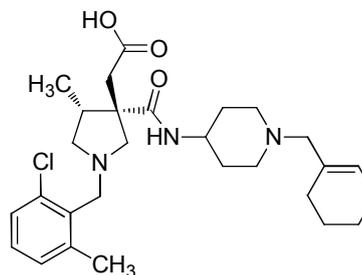
*Quiral, la estereoquímica no se determinó



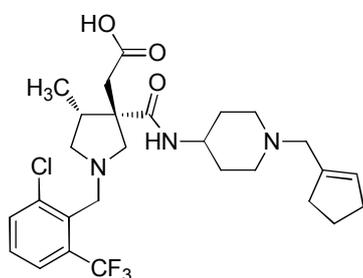
Ejemplo 2



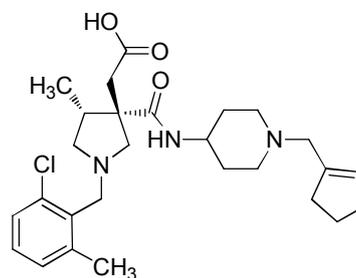
Ejemplo 3,4 y 5



Ejemplo 6



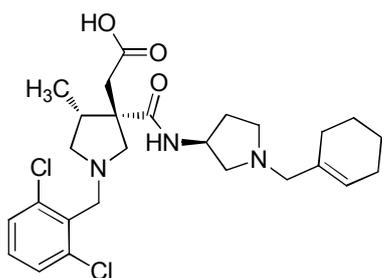
Ejemplo 7



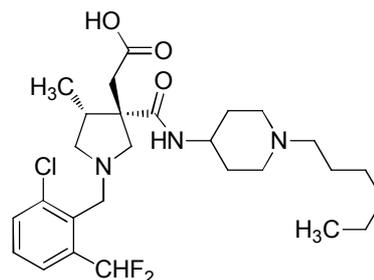
Ejemplo 8

Las fórmulas estructurales de los Compuestos 9 a 14 de los Ejemplos son las siguientes.

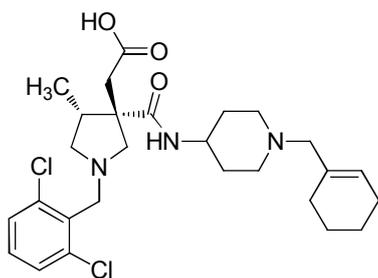
[Fórmula Química 14]



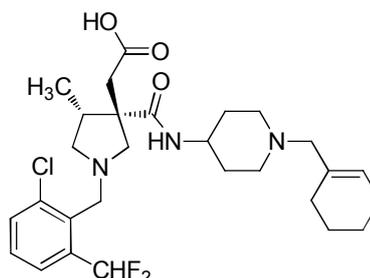
Ejemplo 9



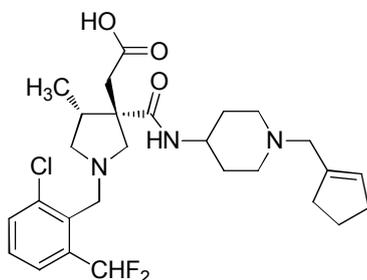
Ejemplo 10



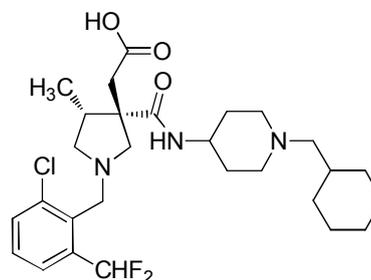
Ejemplo 11



Ejemplo 12



Ejemplo 13



Ejemplo 14

(Ejemplo 1 de Ensayo) Inhibición de la migración celular en ensayo de quimiotaxia inducida por fractalcina

(1) Método

- 5 Los efectos inhibitorios de los compuestos de los ejemplos sobre la migración celular inducida por fractalcina se examinaron usando células B300 transfectadas con CX3CR1.

Tras equilibrar la placa de Transwell (racimos de 24 pocillos, tamaño de poros: 5 μm , fabricada por Corning Incorporated), se añadió una disolución de fractalcina (0.3 nM, fabricada por R&D Systems, Inc.) a los pocillos inferiores. Las células B300 que expresan CX3CR1, que se preincubaron con el compuesto de ensayo (0.001, 0.003, 0.01 ó 0.03 μM) durante 30 minutos, se colocaron en los pocillos de las capas superiores, seguido de la incubación a la condición de 5% de CO_2 durante 3.5 horas a 37°C. El número de células que migraron a los pocillos inferiores se evaluó usando CellTiter (fabricado por Promega Corporation).

5 La tasa inhibitora del compuesto de ensayo sobre la migración celular inducida por fractalcina se calculó mediante la siguiente fórmula, en la que [A] es el número de células que migraron en presencia tanto de fractalcina como de compuesto de ensayo, [B] es el número de células que migraron en presencia de fractalcina y en ausencia del compuesto de ensayo, y [C] es el número de células que migraron en ausencia tanto de fractalcina como del compuesto de ensayo; la concentración inhibitora del 50% (IC₅₀) se calculó basándose en la tasa inhibitora.

$$\text{Tasa inhibitora (\%)} = [1 - \{(A-C)/(B-C)\}] \times 100$$

(2) Resultados

Los resultados de este ejemplo de ensayo se muestran en la siguiente tabla.

[Tabla 5]

Compuesto de ensayo	IC ₅₀ (nM)
Ejemplo 1	13
Ejemplo 2	21
Ejemplo 3	4
Ejemplo 6	11
Ejemplo 7	5
Ejemplo 8	31
Ejemplo 9	16
Ejemplo 10	14
Ejemplo 11	6
Ejemplo 12	6
Ejemplo 13	16
Ejemplo 14	12

10

(Ejemplo 2 de Ensayo) Mejora de la pérdida de peso corporal en modelo de colitis inducida por transferencia de células T

(1) Método

15 Usando ratones SCID a los que se les indujo colitis y en los que se inyectaron células con expresión elevada de CD45RB, CD4 positivo, aisladas de ratones BALB/c, se evaluó la eficacia de los compuestos de los ejemplos mediante los cambios del peso corporal. El experimento se llevó a cabo durante 31 días. En el primer día, se administraron intravenosamente a ratones SCID células CD4 positivo, con expresión elevada de CD45RB, aisladas del bazo de ratones BALB/c (5×10^5 células/ratón). Desde el Día 16 al 31, se administró oralmente el compuesto de los ejemplos a los ratones SCID una vez al día, seguido de la medida de los pesos corporales de todos los animales en el Día 19, 22, 24, 26, 29 y 31.

20

La eficacia se evaluó mediante cambios del peso corporal en el Día 19, 22, 24, 26, 29 ó 31. El cambio del peso corporal (%) se determinó mediante la fórmula a continuación, en la que [A] es el peso corporal en el Día 16, y [B] es el peso corporal en cada día de la medida de los pesos corporales (Día 19, 22, 24, 26, 29 ó 31).

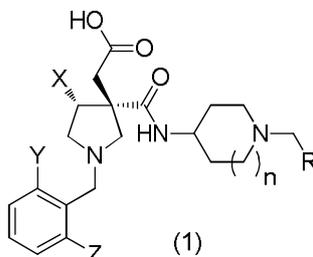
$$\text{Cambio del peso corporal (\%)} = B/A \times 100$$

25 (2) Resultados

Los resultados se muestran en las Figs. 1 a 4. La abscisa en las figuras indica el número de días transcurrido, en el que el día en el que se administraron intravenosamente a ratones SCID células CD4 positivo, con expresión elevada de CD45RB, aisladas del bazo de ratones BALB/c (5×10^5 células/ratón) es el Día 0.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto representado por la fórmula (1) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



5

en la que R representa un grupo alquilo de C_{1-6} no sustituido o que tiene de 1 a 3 sustituyentes seleccionados de átomos de halógeno, un grupo cicloalquilo de C_{3-8} no sustituido o que tiene de 1 a 3 sustituyentes seleccionados de átomos de halógeno, o un grupo cicloalqueno de C_{3-8} no sustituido o que tiene de 1 a 3 sustituyentes seleccionados de átomos de halógeno,

10

X representa un grupo alquilo de C_{1-6} ,

Y y Z son iguales o diferentes entre sí, y cada uno representa un átomo de halógeno o un grupo alquilo de C_{1-6} no sustituido o que tiene de 1 a 3 sustituyentes seleccionados de átomos de halógeno,

n representa 0 ó 1.

15 2. El compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo según la reivindicación 1, en el que R es un grupo fluorobutilo, un grupo pentilo, un grupo ciclohexilo, un grupo difluorociclohexilo, un grupo ciclopentenilo o un grupo ciclohexenilo.

3. El compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo según la reivindicación 1 ó 2, en el que X es un grupo metilo.

20 4. El compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que Y es un átomo de cloro.

5. El compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que Z es un átomo de cloro, un grupo metilo, un grupo difluorometilo o un grupo trifluorometilo.

25 6. El compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que n es 1.

7. Un compuesto según la reivindicación 1 seleccionado del grupo que consiste en:

ácido 2-[(3S,4R)-1-[[2-cloro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-3-[[1-(2-fluoropentil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético,

30 ácido 2-[(3S,4R)-1-[(2,6-diclorofenil)metil]-3-[[1-(4,4-difluorociclohexil)metil]piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético,

ácido 2-[(3S,4R)-1-[[2-cloro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-3-[[1-(ciclohex-1-en-1-il)metil]piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético,

ácido 2-[(3S,4R)-1-[(2-cloro-6-metilfenil)metil]-3-[[1-(ciclohex-1-en-1-il)metil]piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético,

35 ácido 2-[(3S,4R)-1-[[2-cloro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-3-[[1-(ciclopent-1-en-1-il)metil]piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético,

ácido 2-[(3S,4R)-1-[(2-cloro-6-metilfenil)metil]-3-[[1-(ciclopent-1-en-1-il)metil]piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético,

ácido 2-[(3S,4R)-3-[[1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)pirrolidin-3-il]carbamoil]-1-[(2,6-diclorofenil)metil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético,

ácido 2-[(3S,4R)-1-[[2-cloro-6-(difluorometil)fenil]metil]-3-[(1-hexilpiperidin-4-il)carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético,

5 ácido 2-[(3S,4R)-3-[[1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-1-[(2,6-diclorofenil)metil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético,

ácido 2-[(3S,4R)-1-[[2-cloro-6-(difluorometil)fenil]metil]-3-[[1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético,

ácido 2-[(3S,4R)-1-[[2-cloro-6-(difluorometil)fenil]metil]-3-[[1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético y

10 ácido 2-[(3S,4R)-1-[[2-cloro-6-(difluorometil)fenil]metil]-3-[[1-(ciclohexilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético,

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

8. Un compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, para uso en terapia.

15 9. Un compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, para uso en el tratamiento de enfermedad inflamatoria del intestino.

10. El compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo según la reivindicación 9, en el que la enfermedad inflamatoria del intestino es colitis ulcerosa o enfermedad de Crohn.

20 11. El compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, para uso como un inhibidor de la ruta de fractalcina-CX3CR1.

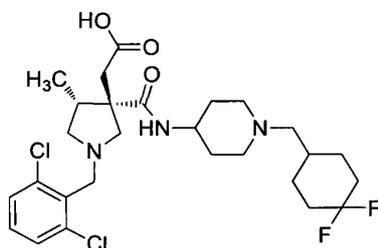
12. El compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, para uso como un inhibidor de fractalcina.

13 El compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, para uso como un inhibidor de CX3CR1.

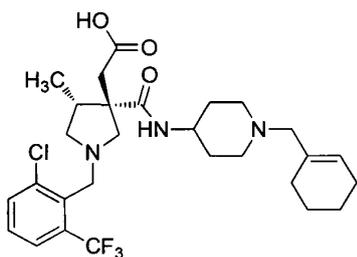
25 14. Un medicamento que comprende el compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7.

15. El uso de un compuesto según la reivindicación 1, en el que se ha introducido, como sonda química para la identificación de proteínas marcadoras, cualquiera de (1) un grupo marcador de proteína, (2) un ligador escindible, (3) un grupo marcador de captación, (4) un marcador detectable, y (5) un grupo unido a un soporte de fase sólida.

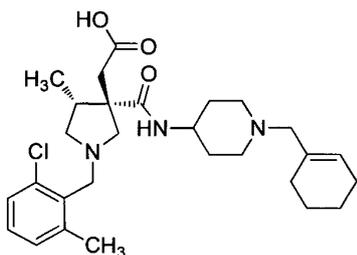
30 16. El compuesto según la reivindicación 1, que es ácido 2-[(3S,4R)-1-[(2,6-diclorofenil)metil]-3-[[1-(4,4-difluorociclohexil)metil]piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;



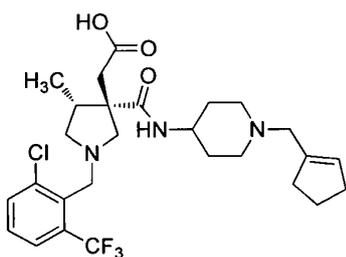
35 17. El compuesto según la reivindicación 1, que es ácido 2-[(3S,4R)-1-[[2-cloro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-3-[[1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamoil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



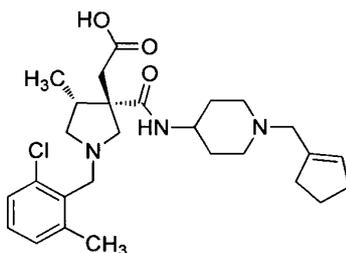
18. El compuesto según la reivindicación 1, que es ácido 2-[(3S,4R)-1-[(2-cloro-6-metilfenil)metil]-3-[[1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamoi]-4-metilpirrolidin-3-il]acético o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



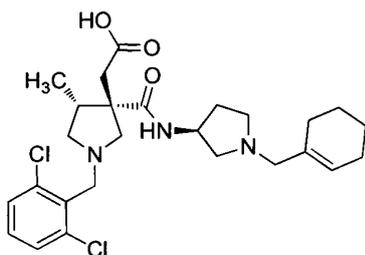
- 5 19. El compuesto según la reivindicación 1, que es ácido 2-[(3S,4R)-1-[[2-cloro-6-(trifluorometil)fenil)metil]-3-[[1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamoi]-4-metilpirrolidin-3-il]acético o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.



- 10 20. El compuesto según la reivindicación 1, que es ácido 2-[(3S,4R)-1-[(2-cloro-6-metilfenil)metil]-3-[[1-(ciclopent-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamoi]-4-metilpirrolidin-3-il]acético o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



21. El compuesto según la reivindicación 1, que es ácido 2-[(3S,4R)-3-[[1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)pirrolidin-3-il]carbamoi]-1-[(2,6-diclorofenil)metil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



- 15 22. El compuesto según la reivindicación 1, que es ácido 2-[(3S,4R)-3-[[1-(ciclohex-1-en-1-ilmetil)piperidin-4-il]carbamoi]-1-[(2,6-diclorofenil)metil]-4-metilpirrolidin-3-il]acético o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:

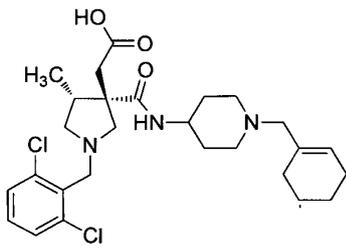


Fig.1

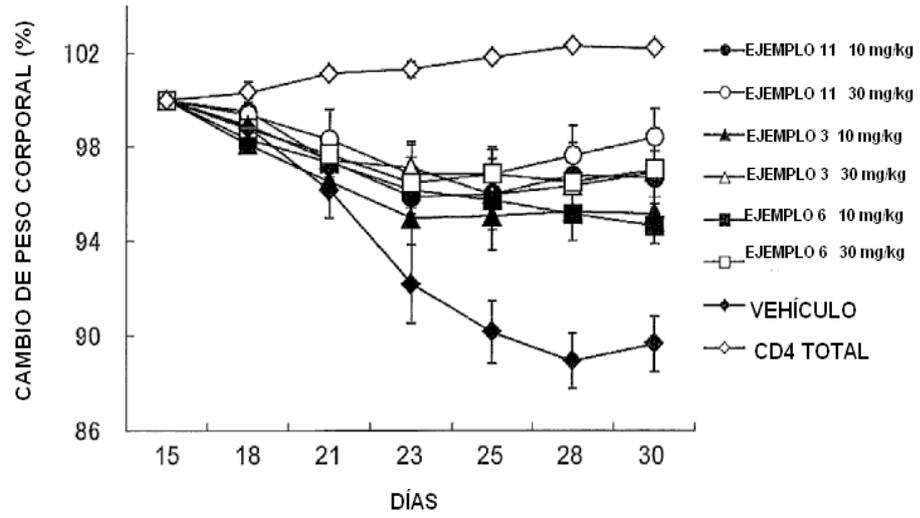


Fig.2

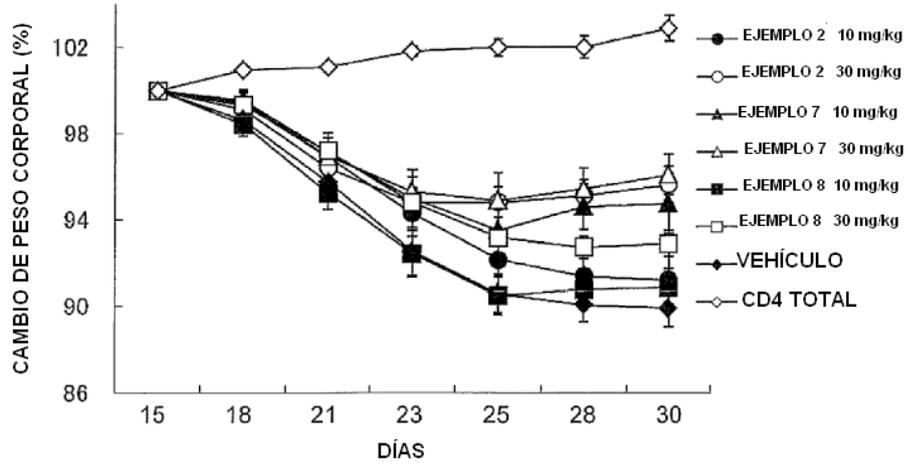


Fig.3

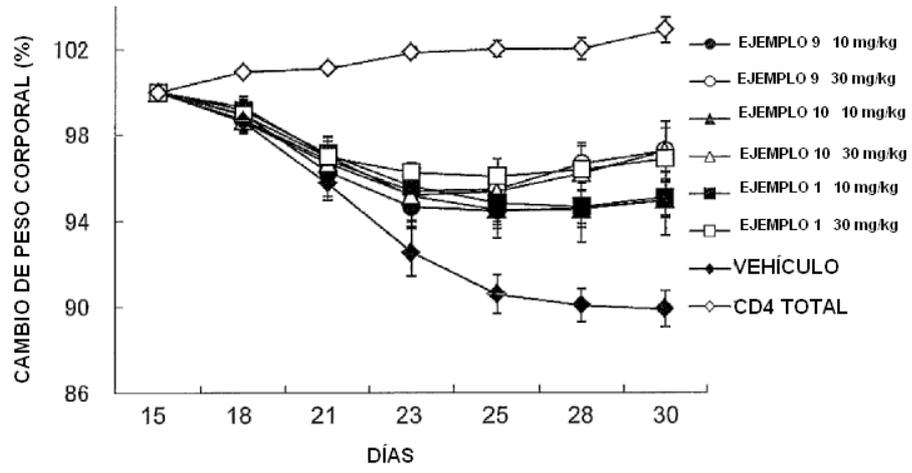


Fig.4

