

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 571 577**

51 Int. Cl.:

C07D 265/30 (2006.01)

C07D 295/04 (2006.01)

C07D 295/03 (2006.01)

A61K 31/5375 (2006.01)

A61P 3/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.01.2013** **E 13702564 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.04.2016** **EP 2809661**

54 Título: **Derivados novedosos de morfolinilo útiles como inhibidores de MOGAT-2**

30 Prioridad:

31.01.2012 EP 12382037

29.03.2012 US 201261617093 P

06.11.2012 EP 12382433

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

26.05.2016

73 Titular/es:

ELI LILLY AND COMPANY (100.0%)

Lilly Corporate Center

Indianapolis, IN 46285, US

72 Inventor/es:

GONZÁLEZ-GARCÍA, MARÍA ROSARIO y

FERNÁNDEZ, MARÍA CARMEN

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 571 577 T3

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

DESCRIPCIÓN

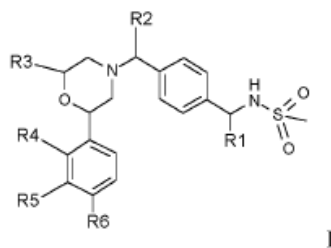
Derivados novedosos de morfolinilo útiles como inhibidores de MOGAT-2

La ingestión de exceso de grasa de la dieta es una causa líder de la obesidad inducida por la dieta y puede generar un profundo detrimento en la salud de las personas. Más de 90 % de la grasa de la dieta para los seres humanos es triacilglicerol (o triglicérido), el cual es absorbido casi completamente por el intestino delgado. Se cree que la enzima acil CoA:monoacilglicerol aciltransferasa-2 (MOGAT-2) juega un rol importante en la absorción de la grasa de la dieta en el intestino delgado. Se ha demostrado que cuando los ratones que tienen déficit de MOGAT-2 son alimentados con una dieta alta en grasa, están protegidos contra el desarrollo de obesidad, intolerancia a la glucosa, hipercolesterolemia y desarrollo de hígado graso. Además, se ha mostrado también que los ratones que tienen déficit de MOGAT-2 exhiben menores niveles de triacilglicerol de plasma, después de una dieta de desafío con aceite de oliva. (Yen, et al, Nat. Med. 2.009, 15(4), 442-446.)

El documento EP2078719 está dirigido a derivados bicíclicos de pirimidina como inhibidores de MGAT.

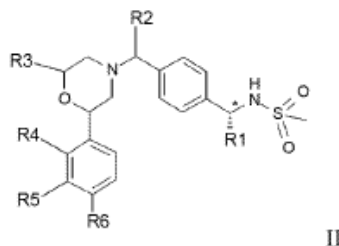
Existe la necesidad de medicamentos adicionales para el tratamiento de hipertrigliceridemia. Existe también la necesidad de nuevos inhibidores del receptor de MOGAT-2. La presente invención está dirigida a una o más de estas necesidades, suministrando compuestos y métodos de tratamiento alternativos, que pueden ser adecuados para el tratamiento de hipertrigliceridemia.

La presente invención suministra un compuesto de la fórmula I



en la que R1 es seleccionado de: -CH₃ y -CF₃; R2 es seleccionado de: H y -CH₃; R3 es seleccionado de: H y -CH₃; R4 es seleccionado de: H, alquilo -OC₁₋₃, y halógeno; R5 es seleccionado de: H, -CF₃, -OCH₃, y halógeno; R6 es seleccionado de: H y halógeno; a condición de que por lo menos uno R4, R5, y R6 sea H; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Los compuestos de la presente invención pueden tener uno o más centros quirales. En los compuestos de la fórmula II dada a continuación, se identifica uno de los centros quirales con un asterisco (*). Cuando R1 es -CH₃, los compuestos preferidos tienen la configuración (R) en este centro quiral. Cuando R1 es -CF₃, los compuestos preferidos tienen la configuración (S).



En una realización, R1 es -CH₃. En otra realización, R1 es -CF₃.

Preferiblemente R2 es H.

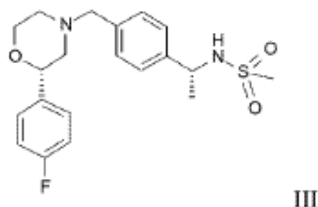
Preferiblemente R3 es H.

Preferiblemente R4 es seleccionado de: H, -OCH(CH₃)₂, y halógeno. Más preferiblemente R4 es seleccionado de: H y halógeno. Aún más preferiblemente R4 es seleccionado de: H y Cl.

Preferiblemente R5 es seleccionado de: H, -CF₃, -OCH₃, F, y Cl. Más preferiblemente R5 es seleccionado de: H, -CF₃, F, y Cl. Aún más preferiblemente R5 es H.

Preferiblemente R6 es seleccionado de H y F. Preferiblemente R6 es F.

La presente invención suministra un compuesto de la fórmula III dada a continuación:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 5 La presente invención suministra un compuesto de acuerdo con cualquiera de las fórmulas I o II, en las que: R1 es -CH₃; R2 es seleccionado de H y -CH₃; R3 es seleccionado de H y -CH₃; R4 es seleccionado de: H, -OCH(CH₃)₂, y halógeno; R5 es seleccionado de: H -CF₃, -OCH₃, Cl, y F; y R6 es seleccionado de H o F; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 10 La presente invención suministra un compuesto de acuerdo con cualquiera de las fórmulas I o II, en las que R1 es -CH₃; R2 es seleccionado de H y -CH₃; R3 es seleccionado de H y -CH₃; R4 es seleccionado de: H, y halógeno; R5 es seleccionado de: H, -CF₃, F, y Cl; y R6 es seleccionado de: H y F; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo

- 15 La presente invención suministra un compuesto de acuerdo con cualquiera de las fórmulas I o II, en las que: R1 es -CH₃; R2 es seleccionado de: H y -CH₃; R3 es seleccionado de: H y -CH₃; R4 es seleccionado de: H y halógeno; R5 es seleccionado de: H, F, y Cl; y R6 es seleccionado de H o F; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

La presente invención suministra un compuesto de acuerdo con cualquiera de las fórmulas I o II, en las que: R1 es -CH₃; R2 es H; R3 es H; R4 es seleccionado de: H, y Cl; R5 es H, Cl, y F; y R6 es seleccionado de H o F; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 20 La presente invención suministra un compuesto de acuerdo con cualquiera de las fórmulas I o II, en las que: R1 es -CH₃; R2 es H; R3 es H; R4 es seleccionado de: H, y Cl; R5 es H; y R6 es seleccionado de H o F; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

La presente invención suministra un compuesto de acuerdo con cualquiera de las fórmulas I o II, en las que: R1 es -CH₃; cada uno de R2, R3, R4, y R5 es H; y R6 es F.

- 25 La presente invención suministra un compuesto de acuerdo con cualquiera de las fórmulas I o II, en las que: R1 es -CF₃; R2 es seleccionado de H y -CH₃; R3 es seleccionado de H y -CH₃; R4 es seleccionado de: H, -OCH(CH₃)₂, y halógeno; R5 es seleccionado de: H -CF₃, -OCH₃, Cl, y F; y R6 es seleccionado de H o F; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 30 La presente invención suministra un compuesto de acuerdo con cualquiera de las fórmulas I o II, en las que R1 es -CF₃; R2 es seleccionado de H y -CH₃; R3 es seleccionado de H y -CH₃; R4 es seleccionado de: H, y halógeno; R5 es seleccionado de: H, -CF₃, F, y Cl; y R6 es seleccionado de: H y F; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

La presente invención suministra un compuesto de acuerdo con cualquiera de las fórmulas I o II, en las que: R1 es -CF₃; R2 es seleccionado de: H y -CH₃; R3 es seleccionado de: H y -CH₃; R4 es seleccionado de: H y halógeno; R5 es seleccionado de: H, F, y Cl; y R6 es seleccionado de H o F; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 35 La presente invención suministra un compuesto de acuerdo con cualquiera de las fórmulas I o II, en las que: R1 es -CF₃; R2 es H; R3 es H; R4 es seleccionado de: H, y Cl; R5 es H, Cl, y F; y R6 es seleccionado de H o F; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 40 La presente invención suministra un compuesto de acuerdo con cualquiera de las fórmulas I o II, en las que: R1 es -CF₃; R2 es H; R3 es H; R4 es seleccionado de: H, y Cl; R5 es H; y R6 es seleccionado de H o F; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

La presente invención suministra un compuesto de acuerdo con cualquiera de las fórmulas I o II, en las que: R1 es -CF₃; cada uno de R2, R3, R4, y R5 son H; y R6 es F.

Preferiblemente la sal farmacéuticamente aceptable es seleccionada de: una sal de cloruro y una sal de maleato.

Más preferiblemente la sal farmacéuticamente aceptable es sal de maleato.

Son compuestos preferidos N-[(1R)-1-(4-[(2S)-2-(4-fluorofenil)morfolin-4-il]metil}fenil)etil]metanosulfonamida; clorhidrato de N-[(1R)-1-(4-[(2S)-2-(4-fluorofenil)morfolin-4-il]metil}fenil)etil]metanosulfonamida; y ácido maleico de N-[(1R)-1-(4-[(2S)-2-(4-fluorofenil)morfolin-4-il]metil}fenil)etil] metanosulfonamida.

- 5 La presente invención suministra una composición farmacéutica que comprende un compuesto de las fórmulas I, II, o III como se describió anteriormente o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y por lo menos uno de un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptables.

- 10 La presente invención también suministra un compuesto para uso en un método de tratamiento a un paciente que necesita de tratamiento para hipertrigliceridemia, donde el método comprende la administración al paciente de una cantidad eficaz de un compuesto, de acuerdo con las fórmulas I, II, o III anteriores.

La presente invención suministra un compuesto de acuerdo con las fórmulas I, II, o III anteriores para el uso en el tratamiento de hipertrigliceridemia.

La presente invención suministra lo necesario para el uso de un compuesto de acuerdo con las fórmulas I, II, o III anteriores en la manufactura de un medicamento para tratar la hipertrigliceridemia.

- 15 El término "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a una sal del compuesto de la invención que es considerada aceptable para el uso clínico y/o veterinario. Las sales farmacéuticamente aceptables y metodologías comunes para prepararlas son bien conocidas en la técnica. Véase por ejemplo P. Stahl, et al., Handbook de Pharmaceutical Salts: Properties, Selection and Use, (VCHA/Wiley-VCH, 2002); S.M. Berge, et al., "Pharmaceutical Salts," Journal de Farmaceutical Sciences, Vol. 66, No. 1, enero de 1977.

- 20 Las formulaciones de la presente invención pueden ser preparadas mediante procedimientos conocidos en la técnica, usando aditivos conocidos o fácilmente disponibles. El término "vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable", como es usado en la presente memoria, se refiere a uno o más vehículos, diluyentes y excipientes que son compatibles con otros ingredientes de la formulación y no son perjudiciales para un paciente. Las composiciones farmacéuticas y procedimientos para su preparación son bien conocidos en la técnica y pueden encontrarse ejemplos en Remington, "The Science and Practice de Pharmacy" (A. Gennaro, et al. eds. 19ª ed. Mack Publishing Co.). Ejemplos no limitantes de vehículos, excipientes y diluyentes farmacéuticamente aceptables que son adecuados para tales formulaciones incluyen los siguientes: almidón, azúcares, manitol, y derivados de sílica; agentes aglutinantes tales como carboximetil celulosa y otros derivados de celulosa, alginatos, gelatina, y polivinil-pirrolidona; agentes humectantes tales como glicerina; agentes de desintegración tales como carbonato de calcio y bicarbonato de sodio.

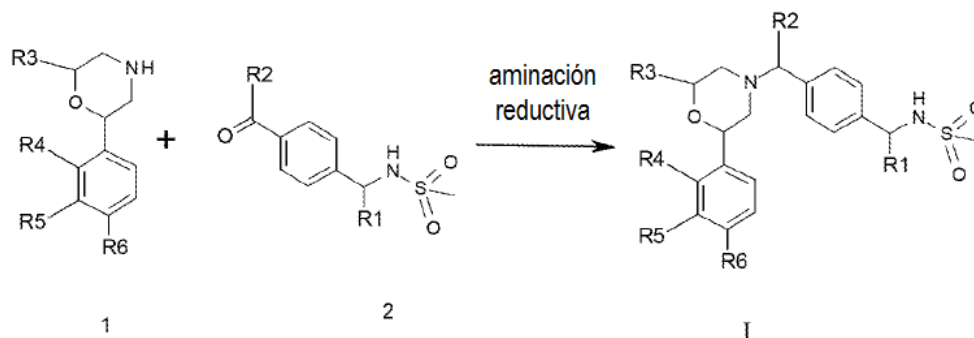
Como se usa en la presente memoria, paciente se refiere a un animal que necesita de tratamiento, preferiblemente no de manera exclusiva un mamífero, el cual preferiblemente es un humano; o alternatively un animal de compañía, tal como un perro o gato o un ave.

- 35 A menos que se anote lo contrario, los compuestos ilustrados en la presente memoria son nombrados y numerados usando bien sean ACDLABS o Symyx Draw 3.2.

Química general

- Como se usan en la presente memoria, los siguientes términos tienen los significados indicados: "ACN" se refiere a acetonitrilo; "DCM" se refiere a diclorometano; "DEA" se refiere a dietilamina; "DMEA" se refiere a dimetiletilamina; "DMF" se refiere a dimetilformamida; "ee" se refiere a exceso enantiomérico; "EtOAc" se refiere a acetato de etilo; 40 "EtOH" se refiere a etanol; "h" se refiere a hora(s); "HPLC" se refiere a cromatografía líquida de alto desempeño; "IPA" se refiere a isopropil alcohol; "isómero 1" se refiere al isómero que hace elución de primero; "isómero 2" se refiere al isómero que hace elución de segundo; "LC/MS" se refiere a cromatografía líquida seguida por espectroscopía de masas; "MeOH" se refiere a metanol; "min" se refiere a minuto(s); "MS" se refiere a espectroscopía de masas; "RMN" se refiere a resonancia magnética nuclear; "SFC" se refiere a cromatografía de fluido supercrítico; "THF" se refiere a tetrahidrofurano.

Esquema 1

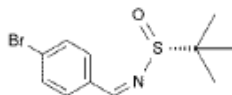


El esquema 1 ilustra la síntesis general del compuesto de la fórmula I.

Un compuesto de morfolina sustituida 1, el cual está disponible comercialmente o es sintetizado por métodos conocidos de la literatura, reacciona con una aldehído o cetona 2 bajo condiciones de introducción reductora de grupo amino, para suministrar los compuestos de la fórmula I. ((véase: Richard C. Larock, Comprehensive Organic Transformations: a guide to functional group preparations, 2ª edición, páginas 835-846, Wiley-VCH. (1999)). Preferiblemente, el compuesto de morfolina 1 reacciona con el compuesto 2 con la existencia de un agente reductor tal como triacetoxiborohidruro y un ácido tal como ácido acético en diclorometano, para suministrar el compuesto de la fórmula I, el cual con ácidos apropiados puede ser convertido en una sal adecuada, por ejemplo HCl, hasta la forma de sal clorhidrato.

Preparación 1

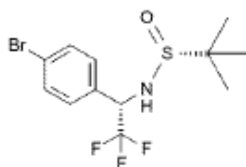
(N-Z)-N-[(4-bromofenil)metilen]-(R)-2-metil-propano-2-sulfinamida



Agregue en porciones (R)-2-metilpropano-2-sulfinamida (40,5 g, 0,33 mol) a una solución de 4-bromobenzaldehído (65,57 g, 0,35 mol) en tolueno (283 mL). Agite la mezcla a temperatura ambiente por 15 minutos y luego añada hidróxido de sodio (1,34 g, 0,33 mol). Agite la suspensión a temperatura ambiente por 12 h. Agregue sulfato de sodio (16 g) y Celite® (16 g) y agite la suspensión por 15 min. Filtre y concentre el filtrado bajo presión reducida. Purifique el residuo con cromatografía de sílica gel, haciendo elución con hexano/EtOAc (100% a 70% hexano) para suministrar el compuesto del título como un sólido blanco (85,5 g, rendimiento de 88%). MS (m/z): 288 (M+1).

Preparación 2

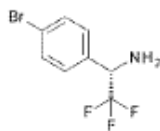
N-[1S]-1-(4-bromofenil)-2,2,2-trifluoro-etil]-(R)-2-metil-propano-2-sulfinamida



Agregue (trifluorometil)trimetilsilano puro (109 mL, 0,74 mol) a 0 °C a una solución agitada de acetato de tetrabutilamonio (88 g, 0,29 mol) y (N-Z)-N-[(4-bromofenil)metilen]-(R)-2-metil-propano-2-sulfinamida (85 g, 0,29 mol) en DMF (1,2 L) a 0 °C. Agite la mezcla a 0-5°C por 90 min. Añada solución saturada de cloruro de amonio (1.2 L) y realice extracción con EtOAc (4 x 400 mL). Combine los extractos y secuencialmente lave los extractos con agua y luego con salmuera (2 x 1 L); seque sobre sulfato de magnesio; filtre; y concentre el filtrado bajo presión reducida. Triture el residuo con hexano (200 mL) por 10 minutos, filtre y seque el filtrado bajo presión reducida para suministrar el compuesto del título como un sólido amarillo (81 g, rendimiento 76%, >98 de). MS (m/z): 358 (M+1).

Preparación 3

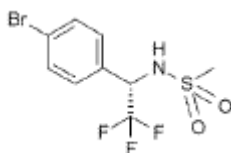
(1S)-1-(4-bromofenil)-2,2,2-trifluoroetanamina



- 5 Añada HCl (4M en dioxano, 226 mL, 0,9 mol) a una suspensión de N-[(1S)-1-(4-bromofenil)-2,2,2-trifluoroetil]-(R)-2-metil-propano-2-sulfonamida (81 g, 0,23 mol) en MeOH (670 mL). Agite la mezcla a temperatura ambiente una hora. Remueva el solvente bajo presión reducida y triture el residuo con metil tert-butil éter (200 mL) por 10 min para dar la sal de HCl como un sólido marrón. Disuelva la sal en agua (1,2) y añada suficiente solución de NaOH 2N para elevar el pH de la solución acuosa a un pH de 10. Realice extracción a la mezcla con metil tert-butil éter (3 x 500 mL). Lave la fase orgánica con agua y luego con salmuera (500 mL en cada caso); seque sobre sulfato de magnesio; filtre; y concentre el filtrado bajo presión reducida para dar el compuesto del título como un sólido amarillo (46 g, rendimiento de 80%, 98% ee). MS (m/z); 358 (M+1).
- 10

Preparación 4

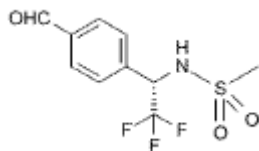
N-[(1S)-1-(4-bromofenil)-2,2,2-trifluoro-etil]metanosulfonamida



- 15 Añada gota a gota cloruro de metanosulfonilo (16,42 mL, 0,21 mol) a una mezcla de (1S)-1-(4-bromofenil)-2,2,2-trifluoroetanamina (49 g, 0,19 mol), 4-dimetilaminopiridina (1,18 g, 9,0 mmol), 2,6-lutidina (67 mL, 0,57 mol) en DCM (250 mL) a 0°C. Caliente la mezcla a temperatura ambiente y agite a aquella temperatura 20 horas. Diluya la mezcla de reacción con DCM (300 mL) y lávela secuencialmente con HCl 2M (2 x 200 mL), agua (250 mL), luego salmuera (250 mL). Recolecte la fase orgánica y seque sobre sulfato de magnesio; filtre; y concentre el filtrado bajo presión reducida. Triture el residuo con hexano (200 mL) por 10 min; filtre; y seque el sólido bajo presión reducida para dar el compuesto del título como un sólido marrón pálido (60 g, rendimiento 93%, 98% ee). MS (m/z): 332 (M+1).
- 20

Preparación 5

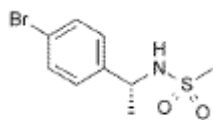
N-[(1S)-2,2,2-trifluoro-1-(4-formilfenil)etil]metanosulfonamida



- 25 Añada N-[(1S)-1-(4-bromofenil)-2,2,2-trifluoro-etil]metanosulfonamida (30 g, 90 mmol), acetato de paladio (II) (0,81 g, 3,6 mmol), butildi-1-adamantilfosfina (3,89 g, 10,84 mmol) y tetrametiletilenediamina (10,50 g, 90 mmol) en tolueno (1,5 mL) a un reactor PARR de 2L. Selle el reactor y eleve la presión con gas de síntesis (1:1 CO/H₂ a 75 bar). Agite la mezcla de reacción por 16 h mientras mantiene la temperatura a 95 °C. Enfríe la mezcla; reduzca la presión; y abra el reactor. Filtre la mezcla a través de Celite® y concentre el filtrado bajo presión reducida. Purifique el residuo crudo mediante cromatografía en sílica gel haciendo elución con hexano/EtOAc (8:2 a 1:1) para suministrar el compuesto del título (22,8 g, 90 %, 80% ee). Aumente la pureza quiral del compuesto haciendo elución del mismo a través de una columna quiral: Quiralpak AS-H (2.1x25cm, 5 µm) CO₂/EtOH (9:1) para suministrar el compuesto del título (19 g, rendimiento 75 %, 98 % ee). MS (m/z): 282 (M+1).
- 30

Preparación 6

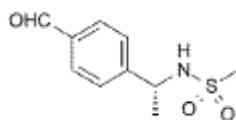
N-[(1R)-1-(4-bromofenil)etil]metanosulfonamida



- 5 Agregue cloruro de metanosulfonilo (13,44 ml, 0,17 mmol) a una mezcla de (1R)-1-(4-bromofenil)etanamina (25 g, 0,12 mol) y trietilamina (51 mL, 0,36 mol) en DCM (250 mL) a 0 °C. Caliente hasta temperatura ambiente y agite por 2,5 h. Lave la mezcla de reacción con HCl 2M acuoso (100 ml). Luego lave de manera secuencial la fase orgánica con agua, y luego salmuera (2 x 100 mL). Seque la fase orgánica sobre sulfato de sodio anhidro; filtre; y concentre el filtrado bajo presión reducida para dar un residuo. Triture el residuo con hexano (150 mL); filtre; y seque bajo presión reducida para suministrar el compuesto del título como un sólido amarillo (33,24 g, 96 %, ee > 98%). MS (m/z): 278 (M+1).

Preparación 7

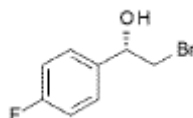
- 10 N-[(1R)-1-(4-Formilfenil)etil]metanosulfonamida



- 15 Combine N-[(1R)-1-(4-bromofenil)etil]-metanosulfonamida (10 g, 35 mmol), cloruro de (1,1'-bis(difenilfosfino)-ferroceno)paladio (II) (733 mg, 0,9 mmol), carbonato de sodio (3,81 g, 35 mmol) y DMF (50 mL) en un reactor PARR de 300mL. Añada trietilsilano (11,6 mL, 0,72 mmol) y purge tres veces el reactor con monóxido de carbono. Cargue el reactor con monóxido de carbono (3,45 bar) y agite la mezcla a 90°C por 15 h. Enfríe el reactor hasta temperatura ambiente; abra; filtre la mezcla a través de una paleta de Celite®; y lave la paleta con DCM (150 mL). De manera secuencial lave el filtrado con agua y luego con salmuera (1,18 80 mL). Concentre la fase orgánica bajo presión reducida para obtener el residuo como un aceite naranja. Purifique el aceite naranja mediante cromatografía instantánea en sílica gel haciendo elución con hexano/EtOAc (0 a 30% EtOAc) para suministrar el compuesto del título (5,6 g, 70%, ee> 98%). MS (m/z): 228 (M+1).
- 20

Preparación 8

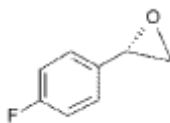
(1S)-2-bromo-1-(4-fluorofenil)etanol



- 25 Bajo una atmósfera de nitrógeno, cargue un recipiente de fondo redondo de 30 litros con una solución de (S)-1-metil-3-difenil-3a,4,5,6-tetrahidropirrol[1,2-c][1,3,2]oxazaborol (1 M en tolueno; 44 mL; 44 mmol) a 22 °C. Añada una solución de complejo de borano-N,N-dietilanilina (1.230 g; 7.540 mmol) en metil t-butil éter (4,5 L). Caliente y mantenga la mezcla a 40°C por 30 min. Añada gota a gota una solución de bromo-4-fluoroacetofenona (1.640 g; 7.530 mmol) en metil t-butil éter (4.5 L) en un periodo de 30 min. Agite la mezcla a 40 °C 2 horas. Enfríe a 10 °C usando un baño de hielo; luego agregue lentamente MeOH (590 mL) para detener la reacción. Agite la mezcla por 30 min mientras la mantiene a 10-20 °C. Añada ácido clorhídrico (3,0 M, 7,5 L) a la mezcla mientras ella está a 10 °C. Agite una hora y filtre. Recolecte el filtrado. Separe las capas en el filtrado; realice extracción a la fase acuosa con metil tert-butil éter (1x 3 L); combine las fases orgánicas y lave con salmuera; seque sobre Na₂SO₄; filtre; y remueva las sustancias volátiles del filtrado bajo presión reducida para dar el compuesto del título como un aceite amarillo pálido (1.650 g, 99%). MS (m/z): 201 (M-OH); valor ee: 97,5% (columna de AD-H 250 mm x 4.6 mm x 5 µm usando hexano:EtOH 99:1 a 25 °C con un caudal de 1,0 mL/min).
- 30
- 35

Preparación 9

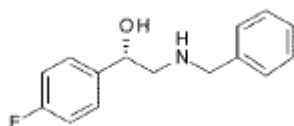
(S)-2-(4-fluorofenil)oxirano



- Disuelva (1S)-2-bromo-1-(4-fluorofenil)etanol (1.650 g, 7,53 mol) en 6,8 L de metil tert-butil éter. Añada NaOH (2M, en R₂O; 4,93 L) mientras la mezcla está a 20 °C. Agite la mezcla por 3 h mientras la mantiene a 20-22 °C. Separe las capas y realice extracción de la capa acuosa con metil tert-butil éter (1x2 L). Combine las fases orgánicas; lave las fases orgánicas con salmuera (1x2 L); seque sobre Na₂SO₄; y filtre; concentre el filtrado para dar un residuo. Purifique mediante cromatografía en columna de sílica gel usando una mezcla 50:1 de éter de petróleo :EtOAc para realizar elución del producto. Concentre las fracciones de producto para dar el compuesto del título como un aceite amarillo pálido (880 g, 84%). ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): 7.27-7,21 (m, 2H), 7,06-7,01 (m, 2H), 3,86 (dd, J= 2,6, 4,0 Hz, 1H), 3,16 (dd, J= 4,1, 5,5 Hz, 1H), 2,79 (dd, J= 2,6, 5,4 Hz, 1H); valor ee: 97.5% (columna AD-H 250 mm x 4,6 mm x 5 µm usando 99:5 hexanos:etanol a 25 °C con un caudal de 1,0 mL/min).

Preparación 10

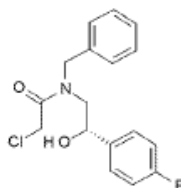
(1S)-2-(bencilamino)-1-(4-fluorofenil)etanol



- Cargue un recipiente de fondo redondo de 10 litros con (S)-2-(4-fluorofenil)oxirano (880 g, 6,38 mol) bajo una atmósfera de nitrógeno. Añada bencilamina (2.047 g, 19,13 mol) mientras mantiene la mezcla a 20 °C. Caliente la mezcla a 80 °C y manténgala a esta temperatura por 5 h. Enfríe hasta 22 °C y agite por 16 h. Añada H₂O (3 L) para detener la reacción. Filtre y lave la torta del filtro con agua (2 x 1 L). Con heptano (2 L) haga una pasta del sólido obtenido y filtre para dar el compuesto del título (1.216 g, 77%). MS (m/z): 246 (M+1); valor ee: 99.0 % (columna AD-H 250 mm x 4.6 mm x 5 µm usando hexanos (con 0.02% de dietilamina):EtOH 90:10 a 25 °C con un caudal de 1.0 mL/min).

Preparación 11

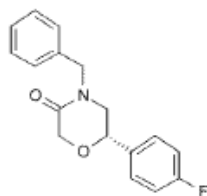
N-bencil-2-cloro-N-[(2S)-2-(4-fluorofenil)-2-hidroxietyl]acetamida



- Disuelva (1S)-2-(bencilamino)-1-(4-fluorofenil)etanol (1.215 g, 4,96 mol) en (1,18 L de DCM y en enfríe la mezcla a 0 °C. Agregue NaOH (1M en H₂O, 5,46 L, 5,46 mol) gota a gota durante 30 min. Agite la mezcla vigorosamente por 10 min mientras la mantiene a 0-3 °C; después agregue una solución de cloruro de cloroacetilo (616,5 g, 5,46 mol) en 4.86 L de DCM gota a gota durante 1 h manteniendo la temperatura por debajo de 6 °C. Agite la mezcla por 1 h a 0 °C; separe las capas y realice extracción de la fase acuosa con DCM (1 x 2 L). Combine la capa orgánica y los extractos; lávelos con ácido clorhídrico al 10% (1,5 L), agua (1.5 L) y NaOH 1M (1 L). Seque sobre Na₂SO₄ y filtre. Recolecte los filtrados y remueva el solvente bajo presión reducida para suministrar el compuesto del título, como un aceite incoloro (1.440 g, 90%). MS (m/z): 322(M+1).

Preparación 12

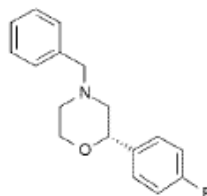
(6S)-4-bencil-6-(4-fluorofenil) morfolin-3-ona



Añada N-bencil-2-cloro-N-[(2S)-2-(4-fluorofenil)-2-hidroxi-etil]acetamida (1.440 g, 4,48 mol) a tert-butil alcohol (14.5 L) y agregue tert-butoxido de potasio (753 g, 6,73 mol) en porciones mientras mantiene la mezcla a 22 °C. Mantenga la mezcla a 22 °C y agite 1,5 horas. Añada una solución acuosa saturada de cloruro de amonio (1.306 g) para detener la reacción. Agite 1 hora adicional y luego agregue R₂O (2 L). Realice extracción con EtOAc (2 x 10 L); combine los extractos; y concentre los extractos bajo presión reducida para suministrar un residuo. Re-disuelva el residuo en EtOAc (20 L) y lave con R₂O (10 L). Seque la solución de EtOAc sobre Na₂SO₄ y filtre. Recolecte los filtrados y remueva el solvente bajo presión reducida para suministrar el compuesto del título como un aceite incoloro (1.250 g, 98%). MS (m/z): 286 (M+1).

10 Preparación 13

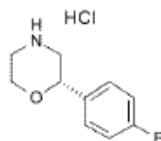
(2S)-4-bencil-2-(4-fluorofenil)morfolina



Bajo una atmósfera de nitrógeno, agregue gota a gota una solución de (6S)-4-bencil-6-(4-fluorofenil) morfolin-3-ona (625 g, 2,19 mol) en THF (22 L) a hidruro de litio y aluminio en THF (1M en THF, 5,0 L, 5 mol) mientras mantiene la temperatura a 20 °C. Caliente la mezcla a 70 °C y agite 1,5 h. Enfríe la mezcla a 0 °C y añada H₂O (200 mL) para detener la reacción, seguido por NaOH acuoso (4 M, 1,25 L), luego agregue más R₂O (600 mL). Agite la mezcla resultante por 30 min; filtre; y enjuague el sólido con EtOAc (10 L). Recolecte los filtrados y concéntralos bajo presión reducida para suministrar el compuesto del título (561 g, 94%). MS (m/z): 272 (M+1).

Preparación 14

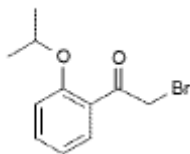
20 Clorhidrato de (2S)-2-(4-fluorofenil)morfolina



Disuelva (2S)-4-bencil-2-(4-fluorofenil)morfolina (948 g, 3,5 mol) en 1,2-dicloroetano (17 L). Caliente la mezcla a 70 °C y añada 1-cloroetil cloroformiato (1.500 g, 10,5 mol) gota a gota mientras calienta. Agite la mezcla a 70 °C 3 h y entonces concentre la mezcla para dar un residuo. Disuelva el residuo en MeOH (10 L) y caliente a 70 °C mientras agita por 1 h. Concentre la solución bajo presión reducida para dar un residuo. Con EtOAc (5 L) haga una pasta con el residuo; filtre; y lave el sólido con EtOAc (1 L) para proveer un sólido blanquecino. Con EtOAc/MeOH 10:1 (10:1, 3 L) haga una pasta con el sólido; filtre; colecte el sólido para suministrar el compuesto del título como un sólido blanco (300 g). Concentre el licor madre para suministrar material adicional. Con una mezcla de EtOAc/MeOH (2:1; 1 L) haga una pasta con el material y filtre para dar 105 g adicionales del compuesto del título, como un sólido blanco. Mezcle los lotes de producto para dar el compuesto del título (405 g, 53%). MS (m/z): 182 (M-Cl). Valor ee 100 %. Columna (AD-H 250 mm x 4.6 mm x 5 µm usando hexanos (con 0,02% de DEA):etil alcohol 90:10 a 25 °C con un caudal de 1,0 mL/min).

Preparación 15

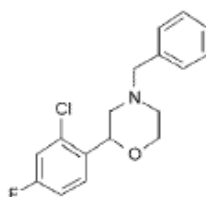
2-bromo-1-(2-isopropoxifenil)etanona



- 5 Disuelva 1-(2-isopropoxifenil)etanona (1,0 g, 6 mmol) en Et₂O (25 mL) y añada bromo (0,3 mL, 6 mmol) gota a gota mientras agita la mezcla en la oscuridad a temperatura ambiente. Lave la mezcla de reacción con una solución acuosa saturada de Na₂CO₃. Séquela sobre MgSO₄; filtre; colecte los filtrados; remueva las sustancias volátiles bajo presión reducida para suministrar el compuesto del título (1,5 g, 83%). MS (m/z): 258 (M+1).

Preparación 16

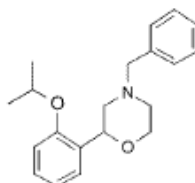
4-bencil-2-(2-cloro-4-fluoro-fenil)morfolina



- 10 Combine ácido fórmico (98-100%; 0,30 mL, 8 mmol) y 2-bencilaminoetanol (1,21 g, 8 mmol) y enfríe la mezcla resultante con un baño de hielo. Agregue 2-bromo-1-(2-cloro-4-fluoro-fenil)etanona (1,0 g, 4 mmol); caliente la mezcla a reflujo y agite a esa temperatura por 20 h. Diluya la mezcla con DCM y lave con solución acuosa saturada de Na₂CO₃. Seque las fases orgánicas sobre MgSO₄; filtre; colecte los filtrados; y concentre bajo presión reducida. Purifique a través de cromatografía instantánea en columna haciendo elución con un gradiente de 0-20% de metiléter - butiléter terciario en hexanos. Combine las fracciones de producto y remueva los solventes bajo presión reducida para dar el compuesto del título como un aceite amarillo (1,22 g, 43%). MS (m/z): 306 (M+1).

Preparación 17

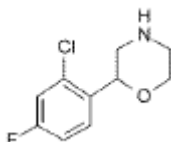
4-bencil-2-(2-isopropoxifenil)morfolina



- 20 Prepare 4-bencil-2-(2-isopropoxifenil)morfolina esencialmente por el método de la Preparación 16. MS m/z 312 (M+1)

Preparación 18

2-(6-cloro-4-fluoro-ciclohexa-2,4-dien-1-il)morfolina

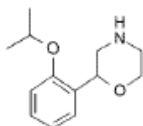


- 25 Disuelva 4-bencil-2-(2-cloro-4-fluoro-fenil)morfolina (529 mg, 1,73 mmol) en DCM (2,5 mL). Agregue 1-cloroetil cloroformiato (1,25 g, 8,65 mmol); caliente a 80 °C; y agite durante la noche. Agregue MeOH (2,5 mL) y agite a 65 °C durante 3 horas. Concentre bajo presión reducida y purifique a través de cromatografía SCX haciendo elución con un gradiente de 0-100% de (NH₃ 2N /MeOH) en MeOH. Combine las fracciones de producto y remueva los solventes bajo presión reducida para suministrar el compuesto del título como un sólido blanco (345 mg, 92%). MS

(m/z): 216(M+1).

Preparación 19

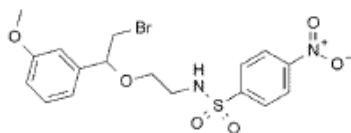
2-(2-Isopropoxifenil)morfolina



- 5 Bajo una atmósfera de nitrógeno combine 4-bencil-2-(2-isopropoxifenil)morfolina (0,51 g, 2 mmol), 10% de PdOH/carbón (0,51 g, 10 mol%) y formiato de amonio anhidro (0,53 g, 10 mmol). Caliente a reflujo la mezcla resultante y agite. Vigile el progreso de la reacción a través de cromatografía de capa delgada. Una vez haya terminado, filtre la mezcla de reacción a través de una paleta de Celite ®; colecte los filtrados; y remueva el solvente bajo presión reducida para dar el compuesto del título como un aceite (0,25 g, 63%). MS (m/z); 433 (M+1).

10 Preparación 20

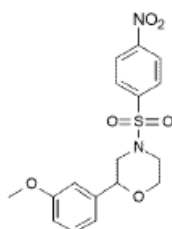
N-[2-[2-bromo-1-(3-metoxifenil)etoxi]etil]-4-nitro-bencenosulfonamida



- 15 Agregue óxido de etileno (11 mL, 220 mmol) todo de una vez a DCM enfriado a 0 °C; luego añada 1-metoxi-3-vinilbenceno (7,09 g, 52,82 mmol) mediante una jeringa. Agite la mezcla mientras la mantiene a 0 °C. Añada N-bromosuccinimida (9,4 g, 52,82 mmol) y 4-nitrobenzenosulfonamida (8,9 g, 44,02 mmol). Envuelva en un recipiente en una lámina y agite la mezcla de reacción por 20 h mientras la mantiene a temperatura ambiente. Concentre bajo presión reducida; filtre; y concentre el filtrado bajo presión reducida para suministrar un residuo. Purifique el residuo a través de cromatografía instantánea en columna haciendo elución con un gradiente 5-40% de EtOAc en hexanos. Combine las fracciones de producto, y remueva los solventes bajo presión reducida para suministrar el compuesto del título como un aceite amarillo oscuro (14,22 g, 70,3%). MS (m/z); 459(M+1).

Preparación 21

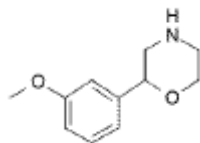
2-(3-Metoxifenil)-4-(4-nitrofenil)sulfonil-morfolina



- 25 Disuelva N-[2-[2-bromo-1-(3-metoxifenil)etoxi]etil]-4-nitrobenzenosulfonamida (14,22 g, 30,96 moles) en ACN (200 mL); agregue carbonato de potasio (6,42 g, 46,44 mmol); y caliente la mezcla a reflujo. Agite la mezcla por 3 h mientras hace reflujo. Enfríe la mezcla resultante hasta temperatura ambiente y dilúyala con EtOAc. Filtre a través de Celite ®; concentre el filtrado bajo presión reducida para suministrar un residuo. Purifique el residuo a través de cromatografía instantánea en columna haciendo elución con un gradiente de 50-80% de EtOAc en hexanos. Combine las fracciones de producto y remueva los solventes bajo presión reducida para suministrar el compuesto del título como un sólido (11,2 g, 95,6%). MS (m/z): 379(M+1).

Preparación 22

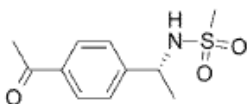
2-(3-metoxifenil)morfolina



- Disuelva 2-(3-metoxifenil)-4-(4-nitrofenil)sulfonyl-morfolina (11,2 g, 29,6 mmol) en ACN (150 mL) y agua (2,67 mL). Añada LiOH (6,21 g, 147,99 mmol) mientras agita la mezcla y seguido por 1-propanotiol (13,42 mL, 147,99 mmol). Agite la mezcla por 25 h a temperatura ambiente. Diluya la mezcla con EtOAc y agregue salmuera. Realice extracción dos veces con EtOAc. Colecte y concentre los extractos hasta ~ 200 mL bajo presión reducida, luego lave tres veces con HCl 1N. Combine los extractos acuosos ácidos y añada Na₂CO₃ hasta que la mezcla sea básica. Realice extracción a la solución básica tres veces con EtOAc; combine los extractos; lave los extractos con salmuera; y seque sobre Na₂SO₄. Filtre; colecte los filtrados; y remueva los solventes bajo presión reducida para suministrar un residuo. Purifique el residuo a través de cromatografía instantánea en columna haciendo elución con EtOAc, seguido de un gradiente de 5-100% de (10% NH₃ 2M en MeOH)/DCM. Combine las fracciones de productos, y remueva los solventes bajo presión reducida para suministrar el compuesto del título como un aceite amarillo (3,09 g, 15,99 mmol). MS (m/z): 194(M+1).

Preparación 23

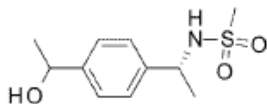
N-[(1R)-1-(4-acetilfenil)etil]metanosulfonamida



- Cargue un tubo con N-[(1R)-1-(4-bromofenil)etil]metanosulfonamida (29 g, 104 mmol), butil vinil éter (34,23 mL, 261 mmol), acetato de paladio (II) (14,04 g, 63 mmol), bis-(1,3-difenilfosfina)propano (52,7 g, 125 mmol) y carbonato de potasio (17,3 g, 125 mmol). Elimine el gas del tubo con nitrógeno 2 minutos, y luego añada H₂O (69,5 mL) y DMF (69,5 mL). Selle el tubo y agite a 110 °C durante 20 h. Enfríe la mezcla de reacción a temperatura ambiente y agregue HCl (2N, 60 mL). Agite la mezcla a temperatura ambiente 10 min. Ajuste pH de la mezcla a un pH de 7 usando pellas de NaOH; diluya con DCM (220 mL); filtre a través de una paleta de Celite ®; y lave secuencialmente el filtrado con K₂CO₃ acuoso (2x 120 mL), salmuera (2x 100 mL), y H₂O (100 mL). Seque la mezcla sobre MgSO₄; filtre; y concentre el filtrado bajo presión reducida para suministrar un residuo. Purifique el residuo a través de cromatografía instantánea en columna haciendo elución con EtOAc en hexanos (gradiente en pasos de 0, 5, 10, 20, 30 y finalmente 40% EtOAc). Combine las fracciones de producto y remueva los solventes bajo presión reducida para dar el compuesto del título (17,6 g, 70,0%) como un aceite amarillo. MS (m/z): 242 (M+1).

Preparación 24

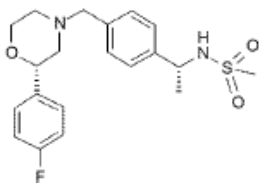
N-[(1R)-1-[4-(1-hidroxietil)fenil]etil]metanosulfonamida, isómero 2



- Disuelva N-[(1R)-1-(4-acetilfenil)etil]metanosulfonamida (15 g, 62 mmol) en EtOH (1 155,4 mL) y enfríe con un baño de hielo. Añada borohidruro de sodio (1,2 g, 31,1 mmol) y agite la mezcla resultante en el baño de hielo 2 h. Detenga la reacción con H₂O hasta mL y concentre bajo presión reducida. Diluya el residuo con EtOAc (90 mL) y H₂O (50 mL). Separe las capas y lave la capa orgánica con salmuera (2x 50 mL), seque sobre MgSO₄; filtre; y concentre el filtrado bajo presión reducida para suministrar un residuo. Purifique y separe los isómeros usando condiciones K de cromatografía (véase a continuación) colectando el segundo isómero que hace elución, como el compuesto del título (2,01 g, 13%). MS (m/z): 261 (M+18).

Ejemplo 1

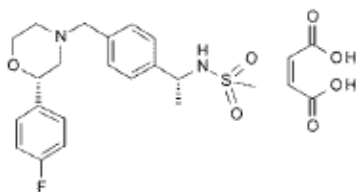
N-[(1R)-1-(4-[(2S)-2-fluorofenil]morfolin-4-il]metil]fenil]etil]metanosulfonamida



Bajo una atmósfera de nitrógeno suspenda clorhidrato de (2S)-2-(4-fluorofenil)morfolina (29,5 g, 128,8 mmol) en DCM (17 L) a 22 °C y añada trietilamina (35,89 mL, 257,5 mmol). Añada N-[(1R)-1-(4-formilfenil)etil]metanosulfonamida (29,26 g, 128,8 mmol) y agite la solución resultante por 30 min. Agregue ácido acético (8,85 mL, 154,5 mmol), luego triacetoxiborohidruro de sodio (86,17 g, 386,3 mmol) en porciones en 3 lotes. Agite por 3 h; vigile la reacción a través de LCMS hasta que esté completa. Detenga la reacción mediante adición lenta de una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (259,31 mL) para dar una solución con un pH de 8. Separe las capas y realice extracción en la capa acuosa con 200 mL de DCM. Combine las capas orgánicas, lave con bicarbonato de sodio saturado, agua, salmuera y luego seque sobre MgSO₄. Filtre; colecte el filtrado; y concentre para dar un residuo. Purifique el residuo a través de cromatografía instantánea en columna de sílica gel, usando un gradiente de 100% DCM a DCM:MeOH (95:5). Combine las fracciones de producto y concentre para suministrar el producto del título como un aceite grueso amarillo (41 g, 81,13 %). MS (m/z): 393 (M+1)

Ejemplo 2

N-[(1R)-1-(4-[(2S)-2-(4-fluorofenil)morfolin-4-il]metil}fenil)etil]metanosulfonamida maleato



Método 1:

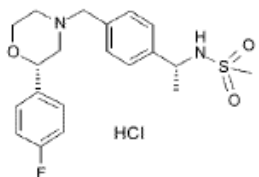
Disuelva N-[(1R)-1-(4-[(2S)-2-(4-fluorofenil)morfolin-4-il]metil}fenil)etil]metanosulfonamida (250,47 mg) en EtOAc (10 mL). Añada ácido maleico (85 mg) disuelto en EtOAc (2 mL) a 60 °C. Enfríe a temperatura ambiente y agite la mezcla por 30 min. Filtre la pasta y enjuague con EtOAc (5 mL). Colecte la torta del filtro y séquela bajo presión reducida para suministrar el compuesto del título como un sólido (280 mg, 97,7%). MS (m/z): 393 (ácido M-maleico +1).

Método 2:

Disuelva N-[(1R)-1-(4-[(2S)-2-(4-fluorofenil)morfolin-4-il]metil}fenil)etil]metanosulfonamida (270 g) en EtOAc (10 L). Caliente la mezcla a 60 °C y agregue ácido maleico (96 g, 1,1eq) en EtOAc (2,8L). Deje enfriar la mezcla a temperatura ambiente y agite la mezcla resultante por 14 h. Filtre la pasta; enjuague el sólido con EtOAc (5L); y seque la torta del filtro bajo presión reducida. Disuelva el sólido en 5 volúmenes de EtOH (1,4 L); caliente a 90°C; y agregue agua (280 mL). Caliente la mezcla a 90 °C por 1h, y luego enfríela a temperatura ambiente durante la noche. Filtre el precipitado, seque en un horno al vacío a 40 °C para suministrar el compuesto del título como un sólido blanco (256 g, 70%). MS (m/z): 393 (ácido M-maleico +1).

Ejemplo 3

Clorhidrato de N-[(1R)-1-(4-[(2S)-2-(4-fluorofenil)morfolin-4-il]metil}fenil)etil]metanosulfonamida

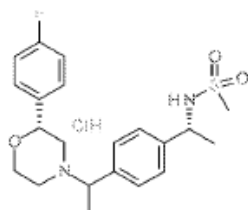


Disuelva N-[(1R)-1-(4-[(2S)-2-(4-fluorofenil)morfolin-4-il]metil}fenil)etil]metanosulfonamida (50 g, 127,39 mmol) en isopropil alcohol (200 mL). Agregue HCl (4M en dioxanos; 63,70 mL, 254,78 mmol) gota a gota a la solución y agite a temperatura ambiente por 50 min. Remueva los compuestos volátiles bajo presión reducida; añada H₂O (200 mL);

luego evapore el agua. Agregue H₂O (200 mL) e isopropilalcohol (100 mL), y concentre hasta un volumen total de 80 mL. Filtre la pasta gruesa resultante; lave el sólido con R₂O; colecte mediante filtración; y seque la torta del filtro bajo presión reducida a 55 °C para suministrar el compuesto del título como un sólido blanco (40,6 g, 75%). MS (m/z): 393 (M-Cl).

5 Ejemplo 4

Clorhidrato de N-[(1R)-1-(4-{1-[2-(4-fluorofenil)morfolin-4-il]etil}fenil)etil]metanosulfonamida, isómero 1 ABS

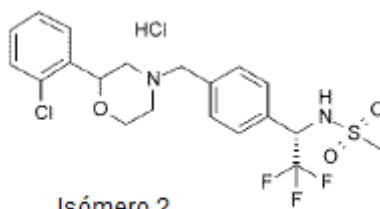


Isómero 1

10 Prepare clorhidrato de N-[(1R)-1-(4-{1-[2-(4-fluorofenil)morfolin-4-il]etil} fenil)etil]metanosulfonamida, isómero 1, esencialmente por el método del Ejemplo 3. MS (m/z) 407 (M-Cl)

Ejemplo 5

Clorhidrato de N-[(1S)-1-(4-{[2-(2-clorofenil)morfolin-4-il]metil}fenil)-2,2,2-trifluoroetil]metanosulfonamida, isómero 2



Isómero 2

15 Combine 2-(2-clorofenil)morfolina, sal de ácido oxálico (200 mg, 0,696 mmol), trietilamina (193 µL, 1,39 mmol), N-[(1S)-2,2,2-trifluoro-1-(4-formilfenil)-etil]-metanosulfonamida (205,3 mg, 0,73 mmol) y DCM (15 mL). Agregue ácido acético (47,8 µL, 0,83 mmol) y triacetoxiborohidruro de sodio (465 mg, 2,09 mmol), y agite por 5 h a temperatura ambiente. Ajuste el pH de la mezcla a 10 con una solución acuosa saturada de NaHCO₃. Agite hasta que cese la producción de gas; separe las capas; y realice extracción de la capa acuosa dos veces con DCM. Combine los extractos orgánicos; lávelos con salmuera; y seque sobre MgSO₄. Filtre la mezcla; colecte el filtrado; y concéntralo

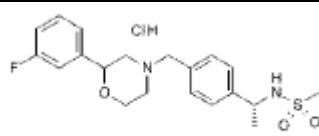
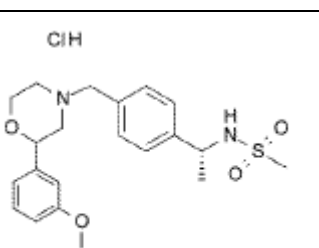
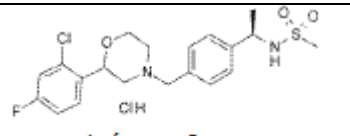
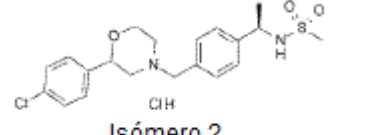
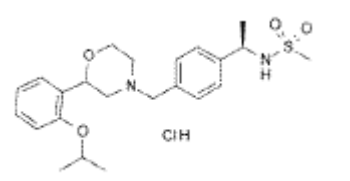
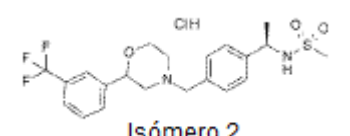
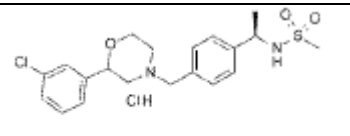
20 bajo presión reducida para dar un residuo. Purifique el residuo sobre un cartucho 10 g SCX, lave el cartucho con DCM, MeOH/DCM 50%, MeOH 100%, luego realice elución con NH₃ en MeOH (2N). Concentre las fracciones de producto bajo presión reducida para suministrar el producto crudo como un aceite. Purifique el aceite a través de HPLC quiral, usando condiciones E (véase a continuación) para suministrar la base libre (104 mg, 32,3%) como el isómero que hace elución de segundo. Disuelva la base libre (104 mg, 0,224 mmol) en 1 mL de DCM y añada HCl

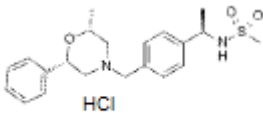
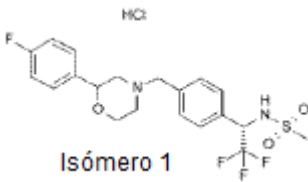
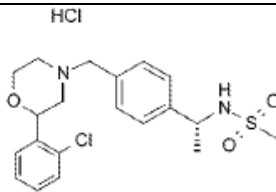
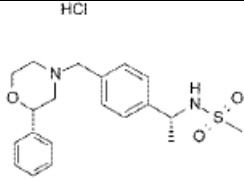
25 en Et₂O (2 M, 561,6 µL, 1,12 mmol) gota a gota. Agite a temperatura ambiente por 5 minutos y luego remueva los solventes bajo presión reducida para dar el compuesto del título (99 mg, 88,2%). MS (m/z): 463(M-Cl).

Los siguientes compuestos son preparados esencialmente por el método del Ejemplo 5. Todos los siguientes Ejemplos en la Tabla 1 están aislados como isómeros individuales bien sea partiendo de materiales quirales de partida y/o usando las columnas cromatográficas y condiciones identificadas a continuación. La separación puede

30 ser ejecutada con la base libre o con su forma de sal.

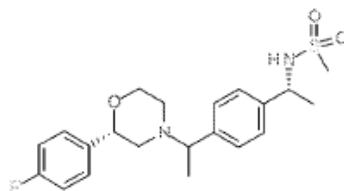
Tabla 1

Ejemplo #	Nombre químico	Estructura	MS (m/z):	Cond. crom.
6	Clorhidrato de N-[(1R)-1-(4-[[2-(3-Fluorofenil)morfolin-4-il]metil]fenil)etil] metanosulfonamida, isómero 1	 Isómero 1 *Se usó la sal de HCl para la separación	393 (M-Cl)	A
7	Clorhidrato de N-[(1R)-1-(4-[[2-(3-Metoxifenil)morfolin-4-il]metil]fenil)etil] metanosulfonamida, isómero 2	 Isómero 2	405 (M-Cl)	J
8	Clorhidrato de N-[(1R)-1-(4-[[2-(2-Cloro-4-fluorofenil)morfolin-4-il]metil]fenil)etil] metanosulfonamida, isómero 2	 Isómero 2	427 (MCl)	E
9	clorhidrato de N-[(1R)-1-(4-[[2-(4-Clorofenil)morfolin-4-il]metil]fenil)etil] metanosulfonamida, isómero 2	 Isómero 2	409 (M-Cl)	B
10	Clorhidrato de N-[(1R)-1-(4-[[2-(2-(1-Metiletoxi)fenil]morfolin-4-il]metil]fenil)etil] metanosulfonamida, isómero 2	 Isómero 2	433 (M-C1)	I
11	Clorhidrato de N-[(1R)-1-(4-[[2-(3-(Trifluorometil)fenil] morfolin-4-il]metil]fenil)etil] metanosulfonamida, isómero 2	 Isómero 2	443 (M-Cl)	C
12	Clorhidrato de N-[(1R)-1-(4-[[2-(3-Clorofenil)morfolin-4-il]metil]etil]metanosulfonamida, isómero 2	 Isómero 2	409 (M-Cl)	D

Ejemplo #	Nombre químico	Estructura	MS (m/z):	Cond. crom.
13	Clorhidrato de N-[(1R)-1-(4-[(2R,6S)-2-Metil-6-fenilmorfolin-4-il]metil]fenil]etil] metanosulfonamida		389 (MCl)	
14	Clorhidrato de N-[(1S)-2,2,2-Trifluoro-1-(4-[[2-(4-fluorofenil)morfolin-4-il]metil]fenil]etil] metanosulfonamida, isómero 1		447 (MCl)	F
15	Clorhidrato de N-[(1R)-1-(4-[[2-(2-Clorofenil)morfolin-4-il]metil]fenil]etil]metanosulfonamida, isómero 2		409 (M-C1)	G
16	Clorhidrato de N-[(1R)-1-{4-[(2-Fenilmorfolin-4-il]metil]fenil}etil] metanosulfonamida, isómero 1		374 (M-Cl)	H

Ejemplo 17

N-[(1R)-1-[4-[1-[(2S)-2-(4-Fluorofenil)morfolin-4-il]etil]fenil]etil]metanosulfonamida, isómero 1 ABS



- 5 Combine N-[(1R)-1-[4-(1-hidroxietil)fenil]etil]-metanosulfonamida isómero 2 (420 mg, 1,73 mmol) y DCM (5 mL). enfríe la mezcla 0 °C y púrguela con nitrógeno. Añada bromuro de acetilo (295,8 µL, 3,45 mmol) y agite la reacción por 10 min mientras la mantiene a 0 °C. Añada una cantidad adicional de bromuro de acetilo (519,5 µL, 6,90 mmol) y agite por 10 min adicionales. Diluya la reacción con DCM, y evapore los solventes bajo presión reducida para suministrar un residuo. Disuelva el residuo en DMF (2 mL) y agregue clorhidrato de (2S)-2-(4-fluorofenil) morfolina (71,1 mg, 0,327 mmol), K₂CO₃ (135,4 mg, 0,980 mmol) y agite a temperatura ambiente durante la noche. Filtre la reacción y purifique filtrado usando cromatografía SCX con un orden de elución de DCM, DCM/MeOH (1:1), MeOH, y finalmente NH₃ 2M /MeOH. Combine las fracciones del producto y remueva los solventes bajo presión reducida para suministrar un residuo. purifique el residuo a través de HPLC en fase inversa (XTerra MS C18 columna, pH 8) recolectando el isómero que hace la elución de primero (isómero 1) como el compuesto del título (9,6 mg, 7,2%).
- 15 MS (m/z): 407 (M+1).

Condiciones de cromatografía:

Tabla 2

Condiciones	Columna	Tamaño de columna	Fase móvil
A	Quiralcel OD-H	21x250 mm 5um	IPA 30% (IPAm 0.2%)/CO ₂
B	Quiralcel OJ-H	21,2x250 mm 5um	20% MeOH (0.2% DMEA)/CO ₂
C	Quiralcel OD	20x250 mm 10 um	EtOH 30%
D	Quiralcel OJ-H	21,2x250 mm 5um	EtOH 100% (DMEA 0.2%)
E	Quiralpak AD-H	21,2x250 mm 5 um	CO ₂ /EtOH-DEA (0.2%) 85/15
F	Quiralcel OJ-H	21,2x250 mm 5um	MeOH 10% (DMEA 0.2%)/CO ₂
G	Quiralpak AD-H	21,2x250 mm 5 um	CO ₂ /EtOH-DMEA (0.2%) 80/20
H	Quiralcel OD	20x250 mm 10 um	(DMEA 0.2% en EtOH) 100%
I	Quiralpak AD, unidad básica	20x250 mm 10 um	IPA 25%/ Hexanos
J	Quiralpak AD-H	21,2x250 mm 5 um	CO ₂ /IPA-DMEA (0.2%) 80/20
K	Quiralcel OJ-H x 2	21,2x250 mm 5 um	MeOH 8%/CO ₂

Ensayo de inhibición de MOGAT-2

- 5 En este ensayo se evalúa la actividad inhibidora *in vitro* de compuestos contra MOGAT-2 humano. MOGAT-2 transfiere un grupo oleilo a monooleoil-glicerol ("MAG") desde oleoil-CoA para formar dioleoil-glicerol ("DAG") en la ruta intestinal de resíntesis de triglicérido. Este ensayo toma ventaja de la extracción con Microscint E, la cual realiza extracción selectiva de moléculas hidrófobas, sobre las hidrofílicas, para separar el ¹⁴C-oleoil-CoA de ¹⁴C-DAG.
- 10 Las células SF9 modificadas genéticamente expresan MOGAT-2 humano. Prepare el lisado celular en 20 mM de NaCl con inhibidor de proteasa (Roche # cat. 11873580001). Homogenice las células SF9 que expresan MOGAT-2 humano a 15.000 rpm durante 20 segundos dos veces (PT-3100 Polytrone). Realice centrifugación al producto de homogenización a 1000 g por 10 minutos a 4 °C. Recolecte el sobrenadante en un tubo separado para la determinación cuantitativa de proteína y prueba de actividad. Purifique el sustrato de glicerol monooleato (Spectrum Chemical, CAS#25496-72-4) por cromatografía. Prepare el sustrato de monoacilglicerol (MAG) en vesículas de fosfolípido (dioleoil fosfatidilcolina "DOPC"). Prepare las vesículas de MAG/DOPC a una concentración total de lípidos de 20 mM (MAG y DOPC). Prepare diferentes relaciones molares de MAG al total de lípidos bien sea para discriminación de compuestos (8,9%) o estudios cinéticos de compuestos (2.6-40%). Mezcle las cantidades apropiadas de MAG y DOPC purificados (Avanti Polar Lipids # 850375C) en cloroformo en un tubo de vidrio.
- 15 A continuación, evapore el cloroformo bajo una corriente de gas N₂ y luego seque bajo presión reducida por 30 minutos. Agregue una cantidad apropiada de amortiguador (Tris-Cl pH 7.4, sacarosa 250 mM, EDTA 1 mM) a la mezcla seca de MAG/DOPC para la concentración deseada total de lípidos. Aplique ultrasonido a la solución MAG/DOPC, hasta que la solución esté clara. Mida el tamaño de la vesícula usando difracción dinámica de luz para
- 20

confirmar la uniformidad.

El amortiguador de ensayo consiste en Tris 100 mM, pH 7,5 (Invitrogen 15567-022), DMSO 11%, sacarosa 250 mM (Sigma S-0389), EDTA 1 mM, y cóctel Completo Inhibidor de Proteasa (Roche Diagnostic 12454800). Agregue los compuestos de prueba al amortiguador junto con los sustratos y enzimas. La concentración final para la reacción es 0.016 mg/mL. Realice extracción a las células SF9, oleoil-CoA 20 μ M (14 C-oleoil-CoA 3,5 μ M), 1,26 mM de lípidos totales en la forma de vesículas a las que se aplicó ultrasonido, compuestas de 8,9:91,1 (relación molar) MAG:DOPC. Detenga la reacción después de una incubación de 90 minutos a temperatura ambiente, mediante adición de AESSM (12,5% de EtOH 100% desnaturalizado; 11% de H₂O desmineralizada; 2,5% de NaOH 1,0 N; 59% de isopropanol (Mallinckrodt 3031-08); 15% de heptano (Omni Solv HX0078)), en volumen. Agregue Microscint E y luego selle las placas y cuente en un contador de escintilación después de por lo menos 4 horas equilibrándose a temperatura ambiente. Calcule el IC₅₀ (concentración para alcanzar una inhibición de la mitad del máximo) usando software Excel Fit (versión 4; análisis de datos usando una ecuación logística no lineal de 4 parámetros (ABase Equation 205)) mediante una gráfica de concentración versus actividad relativa de MOGAT-2.

Todos los compuestos ejemplificados en la presente memoria tienen un IC₅₀ inferior 100 nM, y el ejemplo 2 exhibe un IC₅₀ de 12 nM en este ensayo de MOGAT-2 in vitro.

Actividad inhibidora en ensayo celular MOGAT-2

En este ensayo se evalúa la actividad inhibidora de compuestos contra MOGAT-2 humano en un ambiente celular. Caco-2 es una línea de células de carcinoma de colon humano y es usado frecuentemente como un modelo para células epiteliales intestinales. Caco-2 no expresa MOGAT-2, y así, MOGAT-2 humano es manipulado dentro de la línea de células a través de una transfección estable. Un análogo de MAG, 2-O-hexadecilglicerol (HDG), es utilizado para detectar actividad de MOGAT-2 celular, porque HDG no es hidrolizado y el producto resultante es vigilado fácilmente mediante espectrometría de masas. El sustrato es entregado a las células usando una mezcla con DOPC en forma de vesículas a las que se ha aplicado ultrasonido.

Inocule las células de Caco2 en discos de 100 mm para que sea confluyente al 80% después de 24 horas en medio completo (3/1 DMEM: F12 + FBS 10% + 20mM HEPES + gentamicina). Realice transfección a las células con plásmido hMOGAT-2 (MOGAT-2-pCDNA3.1-Hygro) usando Lipofectamin 2000 (Invitrogen). Después de una exposición 6 horas a la mezcla de transfección, lave las células tres veces en PBS y luego agregue el medio. Incube las células 18 horas adicionales, agregue tripsina a las células y realice diluciones seriales de ellas en discos de 100 mm. Agregue medio completo + 400 μ g/ml de higromicina e incube hasta que aparezcan clones. Aíse y transfieran los clones a placas de 24 pocillos y cultive hasta confluencia. Prepare los ARNs de estos clones usando un kit Qiagen RNAeasy. Ejecute análisis de Taqman usando un ensayo ABI de inventario (HS00228262) en un 7900 Sequence Detection System (ABI). Analice los lisados de estos clones mediante análisis de mancha occidental usando un anticuerpo policlonal de cabra (Santa Cruz, SC-32392 para confirmar la expresión de MOGAT-2 humano de una proteína 38 kD que corresponde a MOGAT-2.

Mezcle 2-O-hexadecilglicerol ("HDG", Biosynth Chemistry & Biology, # H-1806, 562,7 μ l de 20 mg/ml) y DOPC (14,3 ml de 20 mg/ml) en cloroformo en un tubo de vidrio; seque primero bajo gas N₂; y luego bajo presión reducida por 30 minutos adicionales. Agregue 20 ml de amortiguador (150 mM Tris-Cl pH 7,4, sacarosa 250 mM, EDTA 1 mM) a la mezcla seca de HDG/DOPC mientras se aplica ultrasonido hasta que la solución se torne clara. Coloque las células de Caco2 en una placa de 96 pocillos recubierta con poli-D-lisina (la "placa de células") a 37 °C, 5% de CO₂ durante la noche. Remueva el medio de crecimiento y trate previamente las células con el compuesto de prueba en medio DMEMF12 (3:1) (GIBCO 93-0152DK) que contiene BSA 2 % (Sigma) por 30 minutos. Trate las células con un compuesto de prueba en medio BSA 2% DMEMF12 (3:1) que contiene 40 μ M de ácido oleico y 800 μ M de 8,9:91,9 (relación molar) HDG/DOPC 4 horas. Agregue tripsina a las células con 50 μ l de solución de tripsina y agregue 50 μ l de PBS. Inmediatamente congele las células sobre hielo seco y almacene a -20°C para análisis por LC-MS. realice extracción a las células con cloroformo/metanol como sigue: transfiera las células a una placa de 2 ml; lave la placa de células con 200 μ L de metanol y luego transfiera el lavado con metanol a la placa de 2 ml; lave la placa de células nuevamente con 200 μ L de PBS y transfiera el lavado con PBS a la placa de 2 ml. Agregue cloroformo (400 μ L) con estándar interno (19,52 ng/mL) DAG (15:0,15:0 (Sigma)), D5-TAG (39,03 ng/mL) CDN (16,16,16) a la placa de 2 mL. Coloque boca arriba y boca abajo la placa de 2 mL sellada (10 veces), luego coloque sobre el aparato Vortex y gire. Remueva 400 μ L de la capa inferior de la placa de 2 mL y agregue a los pocillos de otra placa, la "Placa Final". Añada CHCl₃:MeOH (400 μ L 2:1) a la placa de 2 mL. Gire nuevamente la placa sellada de 2 mL hacia arriba y hacia abajo (10 veces), coloque sobre el vortex y gire. Remueva 220 μ L de la capa inferior de la placa de 2 mL y agregue a la Placa Final. Seque la Placa Final y reconstituya con 500 mL de IPA. Selle la Placa Final y agite por 5 min. Inyecte 10 μ l de una muestra de la Placa Final sobre una columna Halo C8 (2.1 x 50, tamaño de partícula 2,7 μ L) mantenida a 60 °C usando un aparato para toma automática de muestras Leap con un bucle de 10 μ L, conectado un sistema de entrega de solvente Shimadzu. Vigile los canales para recolectar los datos para el estándar interno TAG D5 C16 así como para los TAGs TAG de éter, y TAG C52 y C54 natural. El solvente A es

H₂O/metanol 80/20 con acetato de amonio 20 µM. El solvente B es IPA/THF 50/50 con acetato de amonio 20 µM. La rata de flujo es 0.4 mL/min. Los solventes de lavado fueron H₂O/MeOH y DCM. Usando el software Xcalibur extraiga las áreas de los picos de interés, y exporte los datos a Excel el cual usa la siguiente fórmula: (área de TAG de éter /área de TAG natural C54)/ área de IS. Esta relación responde efectivamente por la varianza del número de células en cada pozo. A continuación, en la Tabla 3 se suministran los resultados para este ensayo basado en células de MOGAT-2. Los resultados del ensayo basado en células de MOGAT-2 demuestran que los Ejemplos listados en la Tabla 6 inhiben el MOGAT-2 humano en el ambiente celular.

Tabla 3

Ejemplo	IC ₅₀ nM (Desv. est., n*)
2	44 (27, 4)
3	274 (261, 17)
5	16 (1, 2)
11	98 (34 2)
14	40 (21, 3)
16	94 (94, 4)

10 Efectos farmacológicos en un modelo de bolus de aceite de perro

El MOGAT-2 inhibidor hallado en el intestino delgado puede ser útil para el tratamiento de hipertrigliceridemia causada por la excesiva ingesta de grasa. Para evaluar la habilidad de los compuestos de los ejemplos, para inhibir la absorción de TAG, se involucraron 21 perros beagle machos (n=7 por grupo de tratamiento) para cada estudio, donde cada perro seleccionado tenía un peso corporal entre 9 -13 kg. Se alojaron los perros en jaulas con un ciclo de luz estándar (12 horas de luz y 12 horas de oscuridad); a temperatura ambiente: 22,22 ± 8°C y a 30% - 70% de humedad relativa. Los perros ayunaron 16 horas antes del inicio del estudio, luego se dosificó el vehículo a los perros que ayunaron (HEC 1%, Tween 80 0,25%, antiespumante) o uno de los compuestos de prueba en aquel vehículo. Se tomaron muestras de sangre de los perros una hora después de la dosificación, (0,5 ml de la vena yugular) para una muestra de tiempo 0. Se dosificó aceite de oliva a los perros (catálogo Sigma #: O-1514, 5 ml/kg) inmediatamente después de haber tomado la muestra del tiempo 0. Se colectaron muestras en un tubo de EDTA en hielo a las 1,5, 2, 3, 5, 7, y 9 horas después de la dosificación de compuesto/vehículo. Se realizó centrifugación a las muestras a 9.000 rpm por 15 min y se analizaron triglicéridos en plasma (Roche Cat no. 1877771) usando un Roche Hitachi 917. Para la medición de TAG de plasma 18.1_18.1_18.1, se realizó extracción a las muestras y se ejecutó análisis LC/MS/MS de manera similar a la descrita anteriormente en el ensayo de células de MOGAT-2 usando 10 µL de plasma.

El analito es el ion [M+NH₄]⁺ de TAG 18:1 18:1 18:1, el cual tiene una masa de 902,8 m/z; el estándar interno es TAG D5 16:0 16:0 16:0, que tiene una masa de 829,8 m/z. Se reportan los cambios de la relación del ion hijo de 603,5 m/z de 902,8 m/z (TAG 18:1 18:1 18:1) y el ion hijo 556,5 m/z de 829,8 m/z (TAG D5 estándar interno 16:0 16:0 16:0) en cantidad relativa de TAG 18:1 18:1 18:1. Calcular el AUC TAG neto de plasma del AUC TAG total menos AUC TAG de línea base usando Graphpad Prism4: (Net AUC_{TAG} = AUC_{TAG} después de bolus de aceite - AUC_{TAG} en la hora 0). El porcentaje de inhibición de triglicéridos de plasma es calculado como sigue: el (promedio del grupo de bolus de aceite de AUC TAG neto - promedio grupo de bolus de aceite de AUC TAG neto con tratamiento de compuesto/ promedio grupo de bolus de aceite de AUC TAG neto) * 100. El análisis estadístico final usa el método de Dunnett de Anova de una vía, por comparación con el control. Todos los valores netos de AUC TAG son transformados a AUC promedio clasificado por comparación, para limitar la variabilidad dentro de los estudios. La habilidad de los compuestos de los ejemplos de la presente invención para inhibir actividad de MOGAT-2 y reducida absorción de TAG in vivo, puede ser evaluada adicionalmente de acuerdo con este ensayo.

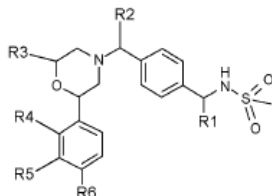
Se evaluó el Ejemplo 2 en este modelo en tres estudios a dosificación de 30 mg/kg y en dos estudios a la dosificación de 75 mg/kg. La combinación de resultados de aquellos estudios demostró reducción estadísticamente significativa (p< 0.05) en la exhibición de triglicéridos postprandiales. Los resultados fueron como sigue: 43% inhibición de absorción de TAG (45% de TAG 18.1) a 30 mg/kg de PO y 64% de inhibición de absorción de TAG (63% de TAG 18.1) a 75 mg/kg de PO.

Los compuestos de los ejemplos de la presente invención pueden ser formulados fácilmente dentro de

- 5 composiciones farmacéuticas, de acuerdo con prácticas aceptadas tales como las publicadas en Remington's Pharmaceutical Sciences, Gennaro, Ed., Mack Publishing Co. Easton Pa. 1990. Un médico u otro personal sanitarioa será capaz de determinar una cantidad efectiva del compuesto para tratamiento de una persona que lo necesita, particularmente para el tratamiento de hipertrigliceridemia. Las composiciones farmacéuticas preferidas pueden ser formuladas como un comprimido o cápsula para administración oral. El comprimido o cápsula puede incluir un compuesto de la presente invención en una cantidad efectiva, para tratar a un paciente que necesita del tratamiento.

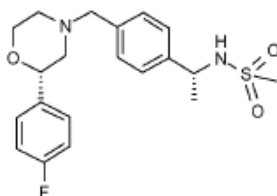
REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de la fórmula siguiente:



en la que

- 5 R1 es seleccionado de: -CH₃ y -CF₃;
R2 es seleccionado de: H y -CH₃;
R3 es seleccionado de: H y -CH₃;
R4 es seleccionado de: H, alquilo -OC₁₋₃, y halógeno;
R5 es seleccionado de: H, -CF₃, -OCH₃, y halógeno;
- 10 R6 es seleccionado de: H y halógeno;
a condición de que por lo menos uno de R4, R5, y R6 sea H;
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
2. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 en el que R1 es -CH₃.
3. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 en el que R1 es -CF₃.
- 15 4. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 en el que R2 es H.
5. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que R3 es H.
6. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 en el que R4 es seleccionado de H y halógeno.
7. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 en el que R5 es seleccionado de: H, -CF₃, F, y Cl.
- 20 8. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 en el que R5 es H.
9. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 en el que R6 es F.
10. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 de la fórmula siguiente:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

11. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 en el que la sal farmacéuticamente aceptable es seleccionada de: una sal de cloruro y una sal de maleato.

12. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 11 en el que la sal farmacéuticamente aceptable es una sal de

maleato.

13. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 que es clorhidrato de N-[(1R)-1-(4-[[[(2S)-2-(4-fluorofenil)morfolin-4-il]metil]fenil)etil]metanosulfonamida.

5 14. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 que es ácido maleico de N-[(1R)-1-(4-[[[(2S)-2-(4-fluorofenil)morfolin-4-il]metil]fenil)etil] metanosulfonamida.

15. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14 y por lo menos uno de un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptables.

16. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14 para uso en terapia.

10 17. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14 para uso en el tratamiento de hipertrigliceridemia.