

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 595 219**

51 Int. Cl.:

C07D 207/34 (2006.01)

C07D 211/58 (2006.01)

A61K 31/44 (2006.01)

A61K 31/40 (2006.01)

A61P 9/00 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

A61P 31/12 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **15.05.2013** **PCT/IB2013/053976**

87 Fecha y número de publicación internacional: **21.11.2013** **WO13171694**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.05.2013** **E 13731938 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.07.2016** **EP 2850060**

54 Título: **Derivados de espiro[2.4]heptano puenteados fluorados como agonistas del receptor de ALX**

30 Prioridad:

16.05.2012 EP 12168322

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

28.12.2016

73 Titular/es:

ACTELION PHARMACEUTICALS LTD. (100.0%)
Gewerbestrasse 16
4123 Allschwil, CH

72 Inventor/es:

CORMINBOEUF, OLIVIER y
POZZI, DAVIDE

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 595 219 T3

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

DESCRIPCIÓN

Derivados de espiro[2.4]heptano puenteados fluorados como agonistas del receptor de ALX

La presente invención se refiere a derivados de espiro[2.4]heptano puenteados fluorados de fórmula (I) y su uso como productos farmacéuticos. La presente invención también se refiere a aspectos relacionados que incluyen procedimientos para la preparación de los compuestos, composiciones farmacéuticas que contienen uno o más compuestos de fórmula (I), y especialmente su uso como agonistas del receptor de ALX (ALXR).

El ALXR (alias de receptor de Lipoxina A4, FPRL1, FPR2; desvelados en el documento WO2003/082314 como secuencia de nucleótidos SEC. ID NO: 1 y la secuencia de aminoácidos SEC. ID NO: 2) es un miembro de la familia de receptores acoplados a la proteína G. El ALXR se encontró que mediaba la movilización del calcio en respuesta a la alta concentración del péptido formil-metionina-leucil-fenilalanina. Adicionalmente, un metabolito lipídico, la lipoxina A4 (LXA4) y sus análogos, se descubrió que se unen al ALXR con alta afinidad y aumentan la producción de ácido araquidónico y la activación de la proteína G en células transfectadas ALXR (Chiang y col., Pharmacol. Rev., 2006, 58, 463-487). Los efectos de la LXA4 se han evaluado en una diversidad de modelos animales de enfermedades; y se demostró que la LXA4 que tiene actividades anti-inflamatorias y de pro-resolución potentes. Los modelos de enfermedad donde la LXA4, o derivados, o análogos estables, demostraron actividades *in vivo* que son por ejemplo la inflamación dérmica, bolsa de aire dorsal, lesión por reperfusión/isquemia, peritonitis, colitis, nefritis mesangioproliferativa, pleuritis, asma, fibrosis quística, sepsis, lesión de la córnea, angiogénesis, periodontitis, hiperalgia inducida por carragenina y enfermedad de injerto contra hospedador (GvHD) (Schwab and Serhan, Current Opinion in Pharmacology, 2006, 414-420). La Lipoxina A4 inhibió la expresión de IL-6 en sinoviocitos similares a fibroblastos humanos (Sodin-Semrl y col, Int. J Immunopathol Pharmacol (2004) 17:15-25) y un agonista estable de FPR2, BML-111, redujo la gravedad de la artritis inducida por colágeno (Zhang y col., (2008) Inflamm Res. 57:157-162) demostrando un posible uso de los agonistas de FPR2 en el tratamiento de la artritis reumatoide. Los ratones con lesión pulmonar aguda (ALI por sus siglas en inglés) demostraron una reducción de la inflamación pulmonar cuando se trataron con lipoxina A4 estable (Jin y col., (2007) Anesth Analg 104:369-377). Se han descrito los niveles más bajos de lipoxina A4 en el asma grave (Celik et al, (2007) Clin Exp Allergy 37:1494-1501; Planaguma y col., (2008) Am J Respir Crit Care Med 178:574-582) y la mejora de las respuestas del asma en modelos animales mediante análogos de lipoxina A4 estable (Levy y col., (2002) Nat Med 8:1018-1023; Levy y col., (2007) FASEB J 21:3877-3884). En la fibrosis quística se ha demostrado, que los niveles de lipoxina A4 pulmonar se reducen tanto en el pulmón de pacientes con fibrosis quística como en modelos animales de la enfermedad (Karp y col., (2004) Nat. Immunol 5:388-392); el tratamiento con un análogo de lipoxina estable mejoró la acumulación de células inflamatorias dentro del pulmón enfermo y redujo la pérdida de peso corporal en los mismos animales (Karp y col., (2004) Nat. Immunol 5:388-392). El tratamiento tópico con lipoxina A4 aumenta la re-epitelización y disminuye la inflamación de la superficie de la córnea seca (Gronert, (2005) Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids 73:221-229; Gronert y col., (2005) J Biol Chem 280:15267-15278) lo que demuestra un posible uso de los agonistas de FPR2 en el tratamiento de la queratoconjuntivitis seca. La administración oral de análogos de lipoxina A4 reduce la gravedad de la colitis en un modelo de ratón de la enfermedad inflamatoria intestinal (Gewirtz y col., (2002) Eicosanoids and other Bioactive Lipids in Cancer, Inflammation, and Radiation Injury, Kluwer Academic/Plenum Publishers, 229-236). El ALXR también se identificó como un receptor funcional de una cantidad de diversos péptidos, que incluyen un fragmento de la proteína priónica, un péptido derivado de gp120 de la cepa del virus de inmunodeficiencia humana (VIH)-1_{LA1} y beta-amiloide 1-42 (Ab42) (para una revisión, Le y col., Protein Pept Lett., 2007, 14, 846-853), y se ha sugerido participar en la patogénesis de la enfermedad de Alzheimer (EA) de varias maneras cruciales (Yazawa y col., FASEB J., 2001, 15, 2454-2462). La activación de ALXR en los macrófagos y las células microgliales inicia una cascada de señalización mediada por la proteína G que aumenta la migración direccional de células, la fagocitosis, y la liberación de mediadores. Estos eventos pueden ser responsables de la captación de las células mononucleares de la proximidad de las placas seniles en las áreas afectadas del cerebro con EA donde Ab42 se produce en exceso y se acumula. A pesar de que la acumulación de leucocitos en los sitios de lesión tisular puede considerarse una respuesta innata del huésped destinada a la depuración de agentes nocivos, los fagocitos mononucleares activados también liberan una variedad de sustancias tales como los aniones superóxido que pueden ser tóxicos para las neuronas. Por lo tanto, el ALXR puede mediar respuestas pro-inflamatorias producidas por Ab42 en el cerebro con EA y exacerbar la progresión de la enfermedad. Además, la humanina es un ligando de alta afinidad por el ALXR y es neuroprotector en modelos de la enfermedad de Alzheimer (Mamiya y col., (2001) Br J Pharmacol 134:1597-1599; Ying y col., (2004) J Immunol 172:7078-7085; Miao y col., (2008) Neuropeptides 42:557-567).

Las propiedades biológicas de los agonistas de ALXR incluyen, pero no se limitan a, la migración/activación de monocitos/macrófagos/microglía/células dendríticas, la migración/activación de neutrófilos, la regulación de la activación de linfocitos, la proliferación y diferenciación, la regulación de la inflamación, la regulación de la producción de citoquinas y/o la liberación, la regulación de la producción de mediadores proinflamatorios y/o la liberación, la regulación de la reacción inmune.

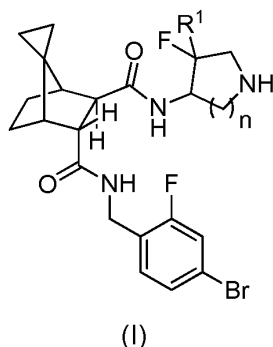
La presente invención proporciona derivados de espiro[2.4]heptano puenteados fluorados, que son agonistas no peptídicos de los receptores de ALX humanos. Otros derivados de espiro[2.4]heptano puenteados con actividad agonista sobre el receptor de ALX humano se han descrito en los documentos WO 2010/134014, WO2011/163502, WO2012/066488 y WO2013/009543. Diferentes derivados de espiro[2.4]heptano puenteados se han descrito en el

documento WO95/02587. Los compuestos son útiles para la prevención o el tratamiento de enfermedades, que responden a la modulación del receptor de ALX, tales como enfermedades inflamatorias, enfermedades obstructivas de las vías respiratorias, afecciones alérgicas, infecciones retrovíticas mediadas por el VIH, trastornos cardiovasculares, neuroinflamación, trastornos neurológicos, dolor, enfermedades mediadas por priones y trastornos mediados por amiloide (especialmente la enfermedad de Alzheimer); además son útiles para la prevención o el tratamiento de las enfermedades autoinmunes y para la modulación de las respuestas inmunitarias (especialmente las provocadas por la vacunación).

En comparación con los compuestos relacionados reivindicados en el documento WO2010/134014 los compuestos de la presente invención muestran sorprendentemente una mayor biodisponibilidad y una mejor exposición plasmática *in vivo* cuando se administra oralmente.

Diversas realizaciones de la presente invención se presentan en lo sucesivo:

1) La presente invención se refiere a compuestos de fórmula (I),



en la que

n representa 1 o 2; y

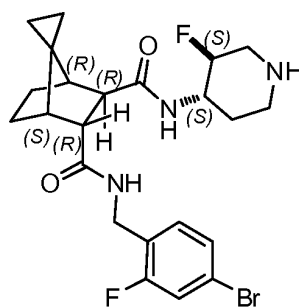
R¹ representa hidrógeno o fluoro;

y a las sales (en particular sales farmacéuticamente aceptables) de dichos compuestos.

La configuración de los compuestos de fórmula (I) de acuerdo con la realización 1) es tal que los dos sustituyentes de amida están en configuración *trans* y que el resto ciclopropilo se encuentra en la proximidad relativa a la amida sustituida con heterociclilo (posición *exo*).

Para evitar cualquier duda, los compuestos de fórmula (I) se denominan en analogía al ejemplo siguiente:

el estereoisómero puro de estructura

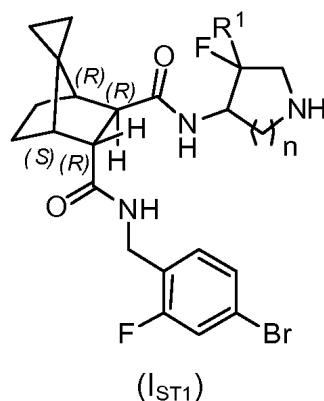


se denomina

(1S,2R,3R,4R)-N²-(4-bromo-2-fluorobencil)-N³-((3S,4S)-3-fluoropiperidin-4-yl)espiro[biciclo[2.2.1]heptan-7,1'-ciclopropan]-2,3-dicarboxamida

Los compuestos de fórmula (I) de acuerdo con la realización 1) pueden contener uno o más centros estereogénicos o asimétricos, tales como uno o más átomos de carbono asimétricos. Los sustituyentes en un doble enlace pueden estar presentes en la configuración (*Z*) o (*E*) a menos que se indique lo contrario. Los compuestos de fórmula (I) pueden por lo tanto estar presentes como mezclas de estereoisómeros o preferentemente como estereoisómeros puros. Las mezclas de estereoisómeros pueden separarse de una manera conocida para una persona experta en la materia.

2) Una realización preferida de la presente invención se refiere a los compuestos de fórmula (I) de acuerdo con la realización 1), que también son compuestos de la fórmula (I_{ST1}),



en la que

n representa 1 o 2; y

R¹ representa hidrógeno o fluoro;

y a las sales (en particular sales farmacéuticamente aceptables) de tales compuestos.

3) Una realización adicional de la presente invención se refiere a los compuestos de fórmula (I) de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1) o 2), en la que **n** representa 1; y a las sales (en particular sales farmacéuticamente aceptables) de tales compuestos.

4) Una realización adicional de la presente invención se refiere a los compuestos de fórmula (I) de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1) o 2), en la que **n** representa 2; y a las sales (en particular sales farmacéuticamente aceptables) de dichos compuestos.

5) Una realización adicional de la presente invención se refiere a los compuestos de fórmula (I) de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1) a 4), en la que **R¹** representa hidrógeno; y a las sales (en particular sales farmacéuticamente aceptables) de tales compuestos.

6) Una realización adicional de la presente invención se refiere a los compuestos de fórmula (I) de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1) a 4), en la que **R¹** representa fluoro; y a las sales (en particular sales farmacéuticamente aceptables) de tales compuestos.

7) Una realización adicional de la presente invención se refiere a los compuestos de fórmula (I) de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1) a 4), en la que **R¹** representa hidrógeno y los dos centros estereogénicos en el grupo heterociclilo, que está unido al átomo de nitrógeno de la amida, se encuentran uno respecto al otro en configuración trans; y a las sales (en particular sales farmacéuticamente aceptables) de tales compuestos.

8) Una realización adicional de la presente invención se refiere a los compuestos de fórmula (I) de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1) a 4) o 7), en la que **R¹** representa hidrógeno y el átomo de carbono unido a **R¹** se encuentra en la configuración (S); y a las sales (en particular sales farmacéuticamente aceptables) de tales compuestos.

9) Una realización adicional de la presente invención se refiere a los compuestos de fórmula (I) de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1) a 4) o 7), en la que **R¹** representa hidrógeno y el átomo de carbono unido a **R¹** se encuentra en la configuración (R); y a las sales (en particular sales farmacéuticamente aceptables) de tales compuestos.

10) Una realización adicional de la presente invención se refiere a los compuestos de fórmula (I) de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1) a 9), en la que el átomo de carbono del grupo-heterociclilo, que está unido al átomo de nitrógeno de la amida, se encuentra en configuración (S); y a las sales (en particular sales farmacéuticamente aceptables) de tales compuestos.

11) Una realización adicional de la presente invención se refiere a los compuestos de fórmula (I) de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1) a 9), en la que el átomo de carbono del grupo-heterociclilo, que está unido al átomo de nitrógeno de la amida, se encuentra en configuración (R); y a las sales (en particular sales farmacéuticamente aceptables) de tales compuestos.

12) Los compuestos preferidos de fórmula (I) tal como se definen en la realización 1) se seleccionan del grupo que consiste en:

(1S,2R,3R,4R)-N²-(4-bromo-2-fluorobencil)-N³-((3S,4S)-3-fluoropiperidin-4-il)espiro[biciclo[2.2.1]heptan-7,1'-ciclopropan]-2,3-dicarboxamida;

(1S,2R,3R,4R)-N²-(4-bromo-2-fluorobencil)-N³-((3R,4R)-3-fluoropiperidin-4-il)espiro[biciclo[2.2.1]heptan-7,1'-ciclopropan]-2,3-dicarboxamida;

(1S,2R,3R,4R)-N²-(4-bromo-2-fluorobencil)-N³-(cis-3-fluoropiperidin-4-il)espiro[biciclo[2.2.1]heptan-7,1'-ciclopropan]-2,3-dicarboxamida;

(1S,2R,3R,4R)-N²-(4-bromo-2-fluorobencil)-N³-(3,3-difluoropiperidin-4-il)espiro[biciclo[2.2.1]heptan-7,1'-ciclopropan]-2,3-dicarboxamida;

(1S,2R,3R,4R)-N²-(4-Bromo-2-fluorobencil)-N³-(cis-4-fluoropirrolidin-3-il)espiro[biciclo[2.2.1]heptan-7,1'-ciclopropan]-2,3-dicarboxamida; y

(1S,2R,3R,4R)-N²-(4-Bromo-2-fluorobencil)-N³-(trans-4-fluoropirrolidin-3-il)espiro[biciclo[2.2.1]heptan-7,1'-ciclopropan]-2,3-dicarboxamida;

o sales (en particular sales farmacéuticamente aceptables) de tales compuestos; ha de entenderse para cualquiera de los compuestos enumerados más arriba, que un centro estereogénico, que no está asignado específicamente, puede encontrarse en la configuración (R) absoluta o (S) absoluta. En particular, los compuestos que contienen más de un centro estereogénico pueden estar en cada centro estereogénico, que no se asigna específicamente, en la configuración (R) absoluta o (S) absoluta, por ejemplo un compuesto

listado como (1S,2R,3R,4R)-N²-(4-bromo-2-fluorobencil)-N³-(cis-3-fluoropiperidin-4-il)espiro[biciclo[2.2.1]heptan-7,1'-ciclopropan]-2,3-dicarboxamida puede ser (1S,2R,3R,4R)-N²-(4-bromo-2-fluorobencil)-N³-((3S,4R)-3-fluoropiperidin-4-il)espiro[biciclo[2.2.1]heptan-7,1'-ciclopropan]-2,3-dicarboxamida, (1S,2R,3R,4R)-N²-(4-bromo-2-fluorobencil)-N³-((3R,4S)-3-fluoropiperidin-4-il)espiro[biciclo[2.2.1]heptan-7,1'-ciclopropan]-2,3-dicarboxamida o cualquier mezcla de los mismos.

Se entiende bien que la presente invención se refiere a compuestos de acuerdo con la realización 1), o de acuerdo con la realización 1) se limitan por las características de una realización que depende de la realización 1; o de acuerdo con la realización 1) se limitan por las características de una cascada de realizaciones dependientes por ejemplo, en forma de "realización 3) que depende de la realización 2) que depende de la realización 1)". En caso de una realización que depende de más de una otra realización, se entiende que cada combinación se desvela específicamente. También, en caso de una realización que depende de más de una otra realización y una o más de dichas otras realizaciones son a su vez dependientes de una o más realizaciones adicionales, se entiende que cada combinación se desvela específicamente si puede obtenerse con respecto a las dependencias dadas y múltiples dependencias. En particular, las realizaciones resultantes de cascadas de más de tres realizaciones dependientes entre sí pueden interpretarse bajo la observación de las dependencias dadas y múltiples dependencias y por lo tanto están destinadas a describirse específicamente. Los ejemplos de realizaciones que son posibles a base de las dependencias de las realizaciones 1) a 12) como se desvela anteriormente y que por lo tanto se destinan y con ello se describen específicamente de forma individualizada son:

1, 2+1, 3+1, 3+2+1, 4+1, 4+2+1, 5+1, 5+2+1, 5+3+1, 5+3+2+1, 5+4+1, 5+4+2+1, 6+1, 6+2+1, 6+3+1, 6+3+2+1, 6+4+1, 6+4+2+1, 7+1, 7+2+1, 7+3+1, 7+3+2+1, 7+4+1, 7+4+2+1, 8+1, 8+2+1, 8+3+1, 8+3+2+1, 8+4+1, 8+4+2+1, 8+7+1, 8+7+2+1, 8+7+3+1, 8+7+3+2+1, 8+7+4+1, 8+7+4+2+1, 9+1, 9+2+1, 9+3+1, 9+3+2+1, 9+4+1, 9+4+2+1, 9+7+1, 9+7+2+1, 9+7+3+1, 9+7+3+2+1, 9+7+4+1, 9+7+4+2+1, 10+1, 10+2+1, 10+3+1, 10+3+2+1, 10+4+1, 10+4+2+1, 10+5+1, 10+5+2+1, 10+5+3+1, 10+5+3+2+1, 10+5+4+1, 10+5+4+2+1, 10+6+1, 10+6+2+1, 10+6+3+1, 10+6+3+2+1, 10+6+4+1, 10+6+4+2+1, 10+7+1, 10+7+2+1, 10+7+3+1, 10+7+3+2+1, 10+7+4+1, 10+7+4+2+1, 10+8+1, 10+8+2+1, 10+8+3+1, 10+8+3+2+1, 10+8+4+1, 10+8+4+2+1, 10+8+7+1, 10+8+7+2+1, 10+8+7+3+1, 10+8+7+3+2+1, 10+8+7+4+1, 10+8+7+4+2+1, 10+9+1, 10+9+2+1, 10+9+3+1, 10+9+3+2+1, 10+9+4+1, 10+9+4+2+1, 10+9+7+1, 10+9+7+2+1, 10+9+7+3+1, 10+9+7+3+2+1, 10+9+7+4+1, 10+9+7+4+2+1, 11+1, 11+2+1, 11+3+1, 11+3+2+1, 11+4+1, 11+4+2+1, 11+5+1, 11+5+2+1, 11+5+3+1, 11+5+3+2+1, 11+5+4+1, 11+5+4+2+1, 11+6+1, 11+6+2+1, 11+6+3+1, 11+6+3+2+1, 11+6+4+1, 11+6+4+2+1, 11+7+1, 11+7+2+1, 11+7+3+1, 11+7+3+2+1, 11+7+4+1, 11+7+4+2+1, 11+8+1, 11+8+2+1, 11+8+3+1, 11+8+3+2+1, 11+8+4+1, 11+8+4+2+1, 11+8+7+1, 11+8+7+2+1, 11+8+7+3+1, 11+8+7+3+2+1, 11+8+7+4+1, 11+8+7+4+2+1, 11+9+1, 11+9+2+1, 11+9+3+1, 11+9+3+2+1, 11+9+4+1, 11+9+4+2+1, 11+9+7+1, 11+9+7+2+1, 11+9+7+3+1, 11+9+7+3+2+1, 11+9+7+4+1, 11+9+7+4+2+1 y 12+1;

en las que en la lista anterior los números se refieren a las realizaciones de acuerdo con su numeración proporcionada anteriormente en el presente documento mientras que "+" indica la dependencia de otra realización. Las diferentes realizaciones individuales se separan con comas. En otras palabras, "3+2+1", por ejemplo, se refiere a la realización 3) que depende de la realización 2) que depende de la realización 1), es decir, la realización "3+2+1" corresponde a la realización 1) limitada adicionalmente por las características de las realizaciones 2) y 3).

El término "heterociclilo", usado solo o en combinación, significa pirrolidinilo o piperidinilo.

La presente invención también incluye compuestos de fórmula (I) isotópicamente marcados, especialmente compuestos marcados con ²H (deuterio), compuestos que son idénticos a los compuestos de fórmula (I) excepto que uno o más átomos se han reemplazado cada uno por un átomo que tiene el mismo número atómico pero una masa

atómica diferente de la masa atómica usualmente encontrada en la naturaleza. Los compuestos de fórmula (I) isotópicamente marcados, especialmente marcados con ^2H (deuterio), y sales de los mismos se encuentran dentro del ámbito de la presente invención. La sustitución de hidrógeno con el isótopo más pesado ^2H (deuterio) puede dar lugar a una mayor estabilidad metabólica, lo que resulta, por ejemplo en una mayor vida media *in vivo* o menores requerimientos de dosificación, o puede dar lugar a una reducción de la inhibición de las enzimas del citocromo P450, lo que resulta por ejemplo, en un perfil de seguridad mejorado. En una realización de la presente invención, los compuestos de fórmula (I) no están isotópicamente marcados, o están marcados solo con uno o más átomos de deuterio. En una sub-realización, los compuestos de fórmula (I) no están isotópicamente marcados en absoluto. Los compuestos marcados isotópicamente de fórmula (I) pueden prepararse en analogía a los procedimientos descritos en lo sucesivo en el presente documento, pero mediante la utilización de la variación isotópica apropiada de los reactivos o materiales de partida adecuados.

La frase "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere al ácido no tóxico, inorgánico u orgánico y/o a sales de adición de base, Lit. por ejemplo "Salt selection for basic drugs", Int. J. Pharm. (1986), 33, 201-217.

Donde se utiliza la forma plural para los compuestos, las sales, las composiciones farmacéuticas, las enfermedades y similares, ésta se entiende que significa también un único compuesto, sal, o similares.

Los compuestos de fórmula (I) de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1) a 12), o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, son adecuados para el uso como medicamentos. En particular, los compuestos de fórmula (I) modulan el receptor de ALX, es decir, actúan como agonistas del receptor de ALX y son útiles para la prevención o el tratamiento de enfermedades que responden a la activación del receptor de ALX tales como enfermedades inflamatorias, enfermedades obstructivas de las vías respiratorias, afecciones alérgicas, infecciones retrovirales mediadas por el VIH, trastornos cardiovasculares, neuroinflamación, trastornos neurológicos, dolor, enfermedades mediadas por prion y trastornos mediados por amiloides (especialmente la enfermedad de Alzheimer); además son útiles para la modulación de respuestas inmunes (especialmente aquellas provocadas por la vacunación). Especialmente, los compuestos de fórmula (I) son útiles para la prevención o el tratamiento de enfermedades tales como enfermedades inflamatorias, enfermedades obstructivas de las vías respiratorias, afecciones alérgicas, trastornos cardiovasculares, neuroinflamación, trastornos neurológicos, dolor, enfermedades mediadas por priones y trastornos mediados por amiloides (especialmente la enfermedad de Alzheimer).

En particular, los compuestos de fórmula (I) de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1) a 12), o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, son adecuados para la prevención o el tratamiento de enfermedades seleccionadas de enfermedades inflamatorias, enfermedades obstructivas de las vías respiratorias y afecciones alérgicas.

Las enfermedades inflamatorias, las enfermedades obstructivas de las vías respiratorias y las afecciones alérgicas incluyen, pero no se limitan a, uno, varios o todos los siguientes grupos de enfermedades y trastornos:

1) Lesión pulmonar aguda (ALI), síndrome de distrés respiratorio adulto/agudo (SDRA); enfermedad obstructiva crónica pulmonar, de las vías respiratorias, o del pulmón (EPOC, EOCV o EOCP), incluyendo bronquitis crónica o disnea asociada a la misma; enfisema, así como exacerbación de la hiper-reactividad las vías respiratorias consecuente con otra terapia con fármacos, en particular otra terapia de fármaco inhalado. Especialmente, las enfermedades inflamatorias, las enfermedades obstructivas de las vías respiratorias y las afecciones alérgicas incluyen EPOC, EOCV o EOCP.

2) Enfermedades inflamatorias, enfermedades obstructivas de las vías respiratorias y afecciones alérgicas adicionales incluyen bronquitis de cualquier tipo u origen.

3) Enfermedades inflamatorias, enfermedades obstructivas de las vías respiratorias y afecciones alérgicas adicionales incluyen bronquiectasias y neumoconiosis de cualquier tipo u origen.

4) Enfermedades inflamatorias, enfermedades obstructivas de las vías respiratorias y afecciones alérgicas adicionales incluyen asma de cualquier tipo u origen, incluyendo asma intrínseco (no alérgico) y asma extrínseco (alérgico), asma leve, asma moderado, asma grave, asma bronquial, asma inducido por el ejercicio, asma ocupacional y asma inducido tras una infección bacteriana.

5) En una realización adicional los compuestos de fórmula (I) de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1) a 12), o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, son particularmente adecuados para la prevención o el tratamiento de enfermedades inflamatorias. Las enfermedades inflamatorias incluyen uno, varios o todos de los siguientes grupos de enfermedades y trastornos:

5a) En particular, las enfermedades inflamatorias se refieren a trastornos relacionados con neutrófilos, especialmente trastornos relacionados con neutrófilos de las vías respiratorias incluyendo hiper-neutrofilia, ya que afecta las vías respiratorias y/o pulmones. Otros trastornos relacionados con neutrófilos también incluyen periodontitis, glomerulonefritis, y fibrosis quística.

5b) Otras enfermedades inflamatorias incluyen enfermedades de la piel tales como psoriasis, dermatitis de contacto, dermatitis atópica, dermatitis herpetiforme, escleroderma, angiitis de hipersensibilidad, urticaria, lupus eritematoso y epidermólisis.

5c) Otras enfermedades inflamatorias también se refieren a enfermedades o afecciones que tienen un componente inflamatorio. Las enfermedades o afecciones que tienen un componente inflamatorio incluyen, pero no se limitan a, enfermedades y afecciones que afectan al ojo, tales como uveítis (anterior, intermedia y

posterior), uveítis del síndrome de Behçet, conjuntivitis, queratoconjuntivitis seca, queratoconjuntivitis seca del síndrome de Sjögren, y conjuntivitis vernal (y, especialmente, la conjuntivitis, queratoconjuntivitis seca, y conjuntivitis vernal); enfermedades que afectan a la nariz que incluyen rinitis y rinitis alérgica (y especialmente rinitis alérgica); y enfermedades inflamatorias en las cuales están implicadas las reacciones autoinmunes o que tienen un componente o una etiología autoinmune, tales como lupus eritematoso sistémico, espondilitis anquilosante, síndrome de Behçet, síndrome de Sjögren, policondritis, esclerodermia, granulomatosis de Wegener, dermatomiositis, hepatitis activa crónica, miastenia gravis, síndrome de Stevens-Johnson, esprue idiopático, enfermedad inflamatoria del intestino autoinmune (por ejemplo, colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn), oftalmopatía endocrina, neumonitis por hipersensibilidad crónica, cirrosis biliar primaria, queratoconjuntivitis seca y queratoconjuntivitis vernal, fibrosis pulmonar intersticial, artritis psoriática y glomerulonefritis.

5d) Las enfermedades inflamatorias adicionales en las que están implicadas las reacciones autoinmunes o que tienen un componente o una etiología autoinmune incluyen la artritis reumatoide, la tiroides de Hashimoto y la diabetes tipo I o II.

Además, los compuestos de fórmula (I) de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1) a 12), o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, son adecuados para la prevención o el tratamiento de rechazo de trasplantes de órgano o tejido, por ejemplo para el tratamiento de los receptores de trasplantes de corazón, pulmón, combinación de corazón-pulmón, hígado, riñón, páncreas, piel o córnea, y la prevención de la enfermedad de injerto contra hospedador, tal como a veces se produce después de un trasplante de médula ósea, particularmente en el tratamiento agudo o crónico de rechazo de alo- y xenoinjerto o en el trasplante de células productoras de insulina, por ejemplo, células de los islotes pancreáticos.

Además, los compuestos de fórmula (I) de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1) a 12), o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, son adecuados para la prevención o el tratamiento de infecciones retrovíricas mediadas por el VIH.

Las infecciones retrovíricas mediadas por el VIH incluyen, pero no se limitan a, uno, varios o la totalidad de los grupos de enfermedades y trastornos causados por las cepas VIH-1 y VIH-2 tales como GUN-4v, GUN-7wt, AG204, AG206, AG208, HCM305, HCM308, HCM342, mSTD104, y HCM309.

Además, los compuestos de fórmula (I) de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1) a 12), o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, son adecuados para la prevención o el tratamiento de los trastornos cardiovasculares.

Los trastornos cardiovasculares se refieren a uno o más estados de enfermedad del árbol cardiovascular (que incluyen el corazón) y a enfermedades de los órganos dependientes. Los estados de enfermedad del árbol cardiovascular y enfermedades de los órganos dependientes incluyen, pero no se limitan a, trastornos del músculo del corazón (cardiomiopatía o miocarditis) tales como la cardiomiopatía idiopática, cardiomiopatía metabólica que incluye la cardiomiopatía diabética, cardiomiopatía alcohólica, cardiomiopatía inducida por drogas, cardiomiopatía isquémica, y cardiomiopatía hipertensiva; trastornos ateromatosos de los principales vasos sanguíneos (enfermedad macrovascular) tales como la aorta, las arterias coronarias, las arterias carótidas, las arterias cerebrovasculares, las arterias renales, las arterias ilíacas, las arterias femorales y las arterias poplíteas, trastornos tóxicos, inducidos por fármacos, y metabólicos (que incluyen hipertensión y/o diabetes) de los vasos sanguíneos pequeños (enfermedad microvascular), tales como las arteriolas retinianas, las arteriolas glomerulares, la vasa nervorum, arteriolas cardíacas y lechos capilares asociados del ojo, el riñón, el corazón, y los sistemas nerviosos central y periférico; y, ruptura de la placa de lesiones ateromatosas de los principales vasos sanguíneos tales como la aorta, las arterias coronarias, las arterias carótidas, las arterias cerebrovasculares, las arterias renales, las arterias ilíacas, las arterias femorales y las arterias poplíteas.

Además, los compuestos de fórmula (I) de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1) a 12), o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, son adecuados para la prevención o el tratamiento de la neuroinflamación. La neuroinflamación se refiere a la producción de moléculas para la señalización celular, la activación de células gliales o vías de activación glial y respuestas, las citocinas proinflamatorias o quimiocinas, la activación de los astrocitos o vías de activación de astrocitos y las respuestas, la activación de la microglia o vías de activación microglial y respuestas, las respuestas relacionadas con el estrés oxidativo tales como la producción de óxido nítrico sintasa y la acumulación de óxido nítrico, proteínas de fase aguda, pérdida de la sinaptofisina y Proteína Postsináptica Densidad-95 (PSD-95), los componentes de la cascada del complemento, la pérdida o reducción de la función sináptica, actividad de la proteína quinasa (por ejemplo, la muerte asociada con la actividad de la proteína quinasa), déficits de comportamiento, daño celular (por ejemplo, el daño celular neuronal), la muerte celular (por ejemplo, la muerte celular neuronal), y/o deposición de β amiloide de placas amiloides.

Además, los compuestos de fórmula (I) de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1) a 12), o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, son adecuados para la prevención o el tratamiento de trastornos neurológicos.

En particular, los trastornos neurológicos incluyen, pero no se limitan a, epilepsia, ictus, isquemia cerebral, parálisis cerebral, esclerosis múltiple remitente recidivante, esclerosis múltiple progresiva, neuromielitis óptica, síndrome clínicamente aislado, enfermedad de Alpers, esclerosis lateral amiotrófica (ELA), demencia senil, demencia con

cuerpos de Lewy, síndrome de Rett, traumatismo de la médula espinal, lesión cerebral traumática, neuralgia del trigémino, polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica, síndrome de Guillain-Barré, neuralgia del glosofaríngeo, parálisis de Bell, miastenia grave, distrofia muscular, atrofia muscular progresiva, atrofia muscular heredada bulbar progresiva, hernia, síndromes de discos vertebrales rotos o prolapsados, espondilosis cervical, trastornos del plexo, síndromes de destrucción de salida torácica, neuropatías periféricas, deterioro cognitivo leve, deterioro cognitivo, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson y corea de Huntington (y especialmente epilepsia, ictus, isquemia cerebral, parálisis cerebral, esclerosis múltiple remitente recidivante, esclerosis múltiple progresiva, enfermedad de Alpers, esclerosis lateral amiotrófica (ELA), demencia senil, demencia con cuerpos de Lewy, síndrome de Rett, traumatismo de la médula espinal, lesión cerebral traumática, neuralgia del trigémino, neuralgia del glosofaríngeo, parálisis de Bell, miastenia gravis, distrofia muscular, atrofia muscular progresiva, atrofia muscular hereditaria bulbar progresiva, hernia, síndromes de disco vertebrales rotos o prolapsados, espondilosis cervical, trastornos del plexo, síndromes de destrucción de salida torácica, neuropatías periféricas, deterioro cognitivo leve, deterioro cognitivo, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson y corea de Huntington).

Además, los compuestos de fórmula (I) de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1) a 12), o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, son adecuados para la prevención o el tratamiento del dolor. El dolor incluye, pero se limita a, dolor neuropático ejemplificado por afecciones tales como neuropatía diabética, neuralgia postherpética, neuralgia trigeminal, polineuropatía diabética dolorosa, dolor posterior a un ictus, dolor posterior a la amputación, dolor mielopático o radiculopático, dolor facial atípico y síndromes tipo causalgia.

Además, los compuestos de fórmula (I) de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1) a 12), o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, son adecuados para la prevención o el tratamiento de enfermedades mediadas por priones. Las enfermedades mediadas por priones, también conocidas como encefalopatías espongiformes transmisibles (EET), incluyen, pero no se limitan a, kuru, síndrome de Gerstmann-Sträussler-Scheinker (GSS), Insomnio Familiar Fatal (FFI) y Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (ECJ).

Además, los compuestos de fórmula (I) de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1) a 12), o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, son adecuados para el tratamiento de trastornos mediados por amiloides. Los trastornos mediados por amiloides se definen como enfermedades y trastornos, que están causados por o asociados a amiloides o proteínas tipo amiloide. Las enfermedades y trastornos causados por o asociados a amiloide o proteínas tipo amiloide incluyen, pero no se limitan a, la enfermedad de Alzheimer (EA), incluyendo enfermedades o afecciones caracterizadas por una pérdida de la capacidad de la memoria cognitiva, tales como, por ejemplo, deterioro cognitivo leve (MCI), demencia con cuerpos de Lewy, síndrome de Down, hemorragia cerebral con amiloidosis. En otra realización, las enfermedades y los trastornos causados por o asociados a amiloides o proteínas tipo amiloide incluyen parálisis supranuclear progresiva, amiloidosis de amiloide de cadena ligera, neuropatías amiloides familiares, esclerosis múltiple, enfermedad de Creutzfeldt Jakob, enfermedad de Parkinson, demencia relacionada con el VIH, Esclerosis Lateral Amiotrófica (ELA), miositis por cuerpos de inclusión (IBM), diabetes de comienzo en el adulto, y amiloidosis cardíaca senil (y especialmente parálisis supranuclear progresiva, esclerosis múltiple, enfermedad de Creutzfeldt Jakob, enfermedad de Parkinson, demencia relacionada con el VIH, Esclerosis Lateral Amiotrófica (ELA), miositis por cuerpos de inclusión (IBM), diabetes de aparición adulta y amiloidosis cardíaca senil).

Además, los compuestos de fórmula (I) de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1) a 12), o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, son adecuados para la modulación de la respuesta inmune.

La modulación de la respuesta inmune incluye, pero no se limita a, los procedimientos basados en la administración a un sujeto de una composición de al menos un antígeno y al menos un compuesto de fórmula (I) de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1) a 12), o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos. En algunos casos, la composición que contiene antígeno se administra primero, seguido de la administración de una composición de al menos un compuesto de fórmula (I) de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1) a 12), o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos. En otros casos, la composición que contiene antígeno se administra al final. Las diferentes composiciones pueden administrarse de forma simultánea, estrechamente en secuencia o separadas en el tiempo. Esos procedimientos y composiciones se proporcionan para la inmunización terapéutica y profiláctica (es decir, la provocación deliberada, mejora, intensificación o modulación de una respuesta inmune adaptativa y/o innata). Las ventajas particulares pueden incluir uno o más de los siguientes:

1) Una respuesta inmune acelerada después de la administración de al menos un compuesto de fórmula (I) de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1) a 12), o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos y el antígeno, en comparación con la administración única del antígeno;

2) Una mayor sensibilidad a pequeñas cantidades de antígeno (por ejemplo, toxina o patógeno) o antígenos que no inducen habitualmente respuestas inmunes fuertes, y

3) Terapias antitumorales más eficaces.

Además, los compuestos de fórmula (I) de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1) a 12), o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, son adecuados para la prevención o el tratamiento de la fibrosis quística, fibrosis pulmonar, hipertensión pulmonar, cicatrización de heridas, nefropatía diabética, reducción de la

inflamación en tejido trasplantado, enfermedades inflamatorias causadas por organismos patógenos.

Especialmente, los compuestos de fórmula (I) de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1) a 12), o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, son adecuados para la prevención o el tratamiento de enfermedades seleccionadas de uno, varios o todos de los siguientes grupos de enfermedades y trastornos:

- 5 1) Las enfermedades inflamatorias, enfermedades obstructivas de las vías respiratorias y las afecciones alérgicas tales como lesión pulmonar aguda (ALI), síndrome de distrés respiratorio del adulto/agudo (SDRA); enfermedad obstructiva crónica pulmonar, de las vías respiratorias, o del pulmón (EPOC, EOCV o EOCP), incluyendo bronquitis crónica o disnea asociada con la misma; y el asma de cualquier tipo u origen, incluyendo asma intrínseco (no alérgico) y asma extrínseco (alérgico), asma leve, asma moderado, asma grave, asma bronquial, asma inducido por el ejercicio, asma ocupacional y asma inducido tras infección bacteriana (y especialmente lesión pulmonar aguda (ALI), síndrome de distrés respiratorio del adulto/agudo (SDRA); y el asma de cualquier tipo u origen, incluyendo asma intrínseco (no alérgico) y asma extrínseco (alérgico), asma leve, asma moderado, asma grave, asma bronquial, asma inducido por el ejercicio, asma ocupacional y asma inducido después de una infección bacteriana);
- 10 2) Las enfermedades inflamatorias tales como trastornos relacionados con neutrófilos, especialmente trastornos relacionados con neutrófilos de las vías respiratorias incluyendo hiper-neutrofilia, ya que afecta las vías respiratorias y/o pulmones; periodontitis; glomerulonefritis; fibrosis quística, y enfermedades de la piel tales como psoriasis, dermatitis de contacto, dermatitis atópica, dermatitis herpetiforme, esclerodermia, vasculitis por hipersensibilidad, urticaria, lupus eritematoso, y epidermólisis;
- 15 3) Las enfermedades que tienen un componente inflamatorio tales como las enfermedades y afecciones que afectan al ojo tales como conjuntivitis, queratoconjuntivitis seca, y conjuntivitis vernal, enfermedad inflamatoria en la que las reacciones autoinmunes están implicadas o que tienen un componente autoinmune o etiología, y la enfermedad intestinal inflamatoria autoinmune (por ejemplo, colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn);
- 20 4) Las infecciones retrovíricas mediada por el VIH tales como las enfermedades y los trastornos causados por las cepas VIH-1 y VIH-2, tales como GUN-4v, GUN-7wt, AG204, AG206, AG208, HCM305, HCM308, HCM342, mSTD104, and HCM309;
- 25 5) La neuroinflamación que se refiere a la producción de moléculas de señalización de células, activación de células gliales o vías de activación glial y respuestas, las citocinas proinflamatorias o quimiocinas, la activación de los astrocitos o vías de activación de astrocitos y las respuestas, la activación de la microglia o vías de activación microglial y respuestas, respuestas relacionadas con el estrés oxidativo tales como la deposición de β amiloide de placas amiloides;
- 30 6) Trastornos neurológicos tales como ictus, isquemia cerebral, enfermedad de Alzheimer, y la enfermedad de Parkinson;
- 35 7) Enfermedades mediadas por priones, también conocidas como encefalopatías espongiformes transmisibles (EET), tales como kuru, síndrome de Gerstmann-Sträussler-Scheinker (GSS), Insomnio Familiar Fatal (IFF) y Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (ECJ);
- 8) Trastornos mediados por amiloides;
- 9) La fibrosis quística, la cicatrización de heridas y enfermedades inflamatorias causadas por organismos patógenos.
- 40 Más preferente, los compuestos de fórmula (I) de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1) a 12), o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, son adecuados para la prevención o el tratamiento de enfermedades seleccionadas del grupo que consiste en lesión pulmonar aguda (ALI); asma; fibrosis quística; queratoconjuntivitis seca; enfermedad intestinal inflamatoria; artritis reumatoide, y la enfermedad de Alzheimer.
- 45 La presente invención también se refiere al uso de un compuesto de fórmula (I) de acuerdo con una cualquiera de las formas de las realizaciones 1) a 12) para la preparación de composiciones farmacéuticas para el tratamiento y/o la profilaxis de las enfermedades mencionadas anteriormente.
- La presente invención también se refiere a las sales farmacéuticamente aceptables y a composiciones farmacéuticas y formulaciones de compuestos de fórmula (I) de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1) a 12).
- 50 Una composición farmacéutica de acuerdo con la presente invención contiene al menos un compuesto de fórmula (I) de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1) a 12) (o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo) como agente activo y opcionalmente vehículos y/o diluyentes y/o adyuvantes.

Los compuestos de fórmula (I) de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1) a 12) y sus sales farmacéuticamente aceptables pueden utilizarse como medicamentos, por ejemplo, en forma de composiciones

farmacéuticas para la administración enteral (tal como especialmente oral) o parenteral (incluyendo la aplicación tópica o por inhalación).

La producción de las composiciones farmacéuticas puede efectuarse de una manera que será familiar para cualquier persona experta en la materia (véase por ejemplo Remington, The Science and Practice of Pharmacy, 21^a Edición (2005), Parte 5, "Pharmaceutical Manufacturing" [publicado por Lippincott Williams & Wilkins]) llevando los compuestos descritos de la fórmula (I) o sus sales farmacéuticamente aceptables, opcionalmente en combinación con otras sustancias terapéuticamente valiosas, en una forma de administración galénica junto con materiales vehículos sólidos o líquidos adecuados, no tóxicos, inertes, terapéuticamente compatibles y, si se desea, adyuvantes farmacéuticos usuales.

La presente invención también se refiere a un procedimiento para la prevención o el tratamiento de una enfermedad o trastorno mencionado en la presente que comprende administrar a un sujeto una cantidad farmacéuticamente activa de un compuesto de fórmula (I) de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1) a 12), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Cualquier referencia a un compuesto de fórmula I o I_{ST1} en este texto se entiende que se refiere también a las sales (y especialmente las sales farmacéuticamente aceptables) de tales compuestos, como sea apropiado y conveniente. Las preferencias indicadas para los compuestos de fórmula I se aplican por supuesto cambiando lo que haya que cambiar a los compuestos de fórmula I_{ST1} así como a las sales y las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de fórmula I o de fórmula I_{ST1}. Lo mismo se aplica a estos compuestos como medicamentos, a composiciones farmacéuticas que contienen estos compuestos como principios activos o a los usos de estos compuestos para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de las enfermedades de acuerdo con la presente invención.

Salvo que se use con respecto a las temperaturas, el término "aproximadamente" (o alternatively "alrededor de") colocado antes de un valor numérico "X" se refiere en la presente solicitud a un intervalo que se extiende desde X menos el 10 % de X hasta X más el 10 % de X, y preferentemente a un intervalo que se extiende desde X menos el 5 % de X hasta X más el 5 % de X. En el caso particular de las temperaturas, el término "aproximadamente" (o alternatively "alrededor de") colocado antes de una temperatura "Y" se refiere en la presente solicitud a un intervalo que se extiende desde la temperatura Y menos 10 °C hasta Y más 10 °C, y preferentemente a un intervalo que se extiende desde Y menos 5 °C hasta Y más 5 °C. Además, la frase "temperatura ambiente" (ta) como se utiliza en el presente documento se refiere a una temperatura de aproximadamente 25 °C.

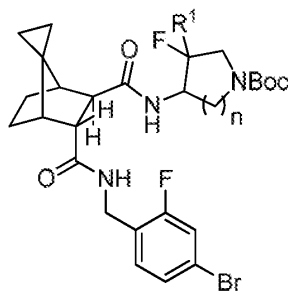
Cada vez que se utiliza la palabra "entre" para describir un intervalo numérico, ha de entenderse que los puntos extremos del intervalo indicado se incluyen explícitamente en el rango. Por ejemplo: si un intervalo de temperatura se describe que se encuentra entre 40 °C y 80 °C, esto significa que los puntos extremos 40 °C y 80 °C se incluyen en el intervalo; o si una variable se define siendo un número entero entre 1 y 4, esto significa que la variable es el número entero 1, 2, 3, o 4.

Los compuestos de Fórmula (I) pueden fabricarse por los procedimientos dados a continuación, por los procedimientos dados en los Ejemplos o por procedimientos análogos. Las condiciones de reacción óptimas pueden variar con los reactivos o disolventes particulares usados, pero tales condiciones pueden determinarse por un experto en la materia mediante procedimientos de optimización de rutina.

Si no se indica lo contrario, los grupos genéricos **R¹** y **n** son como se define por la fórmula (I). Otras abreviaturas utilizadas se definen en la sección experimental.

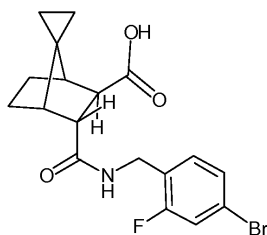
A. Síntesis de productos finales

Los compuestos de fórmula (I) pueden prepararse a partir de compuestos de estructura 1 mediante la desprotección de Boc de los compuestos de estructura 1 como se describe en los procedimientos generales a continuación (parte experimental).



Estructura 1

Los compuestos de estructura 1 pueden prepararse a partir del ácido carboxílico de la estructura 2 mediante la reacción con una amina apropiada usando condiciones de acoplamiento de amida convencionales tales como EDC/HOBt o DCC/HOAt, o PyBOP, o HATU en presencia de una base tal como DIPEA o DMAP o una combinación de ambos a una temperatura que varía de t_a a aproximadamente 60 °C en un disolvente adecuado tal como CH₂Cl₂ o THF / DMF. Alternativamente, los compuestos de fórmula (I) pueden prepararse mediante el acoplamiento del ácido carboxílico de estructura 2 con una amina apropiada, usando POCl₃ en un disolvente adecuado tal como DCE / piridina (1:1). Alternativamente, los compuestos de fórmula (I) pueden prepararse mediante el acoplamiento de una amina apropiada con el ácido carboxílico de la estructura 2 a través de la formación del cloruro de acilo (usando condiciones convencionales tales como cloruro de oxalilo y una cantidad catalítica de DMF en un disolvente tal como tolueno o CH₂Cl₂).



Estrutura 2

El ácido carboxílico de estructura 2 puede sintetizarse de acuerdo con el procedimiento descrito en la parte experimental (véase también el documento WO2010/134014).

Las aminas apropiadas están disponibles en el mercado o pueden sintetizarse mediante el procedimiento dado a continuación o en la parte experimental.

Las aminas 4-amino-3-fluoropiperidin-1-carboxilato de *trans-terc*-butilo y 4-amino-3-fluoropiperidin-1-carboxilato de *cis-terc*-butilo puede sintetizarse siguiendo un procedimiento conocido (documento WO2005/090330).

El 4-amino-3,3-difluoropiperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo racémico puede prepararse a partir de 1-bencil-3,3-difluoropiperidin-4,4-diol (documento WO2008/121687 y documento WO2005/040120) con la siguiente secuencia sintética: 1) reducción del diol con un agente reductor tal como NaBH₄ en un disolvente como THF a una temperatura que varía de 0 °C a t_a ; 2) intercambio de grupo protector de bencilo a Boc mediante hidrogenación de 1-bencil-3,3-difluoropiperidin-4-ol en presencia de un catalizador tal como Pd(OH)₂ en un disolvente tal como EtOH a t_a , seguido de protección con Boc con dicarbonato de di-*terc*-butilo en un disolvente tal como CH₂Cl₂ a t_a ; 3) oxidación del grupo hidroxilo con un agente oxidante tal como peryodinato de Dess-Martin en un disolvente apropiado tal como CH₂Cl₂ a una temperatura que varía de 0 °C a t_a ; 4) aminación reductora con bencilamina y un agente reductor adecuado tal como NaBH(OAc)₃ o NaBH₄ en un disolvente apropiado tal como CH₂Cl₂ a temperatura ambiente, y 5) la escisión del grupo protector bencilo mediante hidrogenación utilizando un metal tal como Pd en un disolvente tal como MeOH a temperatura ambiente.

La síntesis de 3-amino-4-fluoropirrolidin-1-carboxilato de *trans-terc*-butilo, 3-amino-4-fluoropirrolidin-1-carboxilato de *cis-terc*-butilo, y 4-amino-3,3-difluoropirrolidin-1-carboxilato de *terc*-butilo se indica en el Esquema 1.

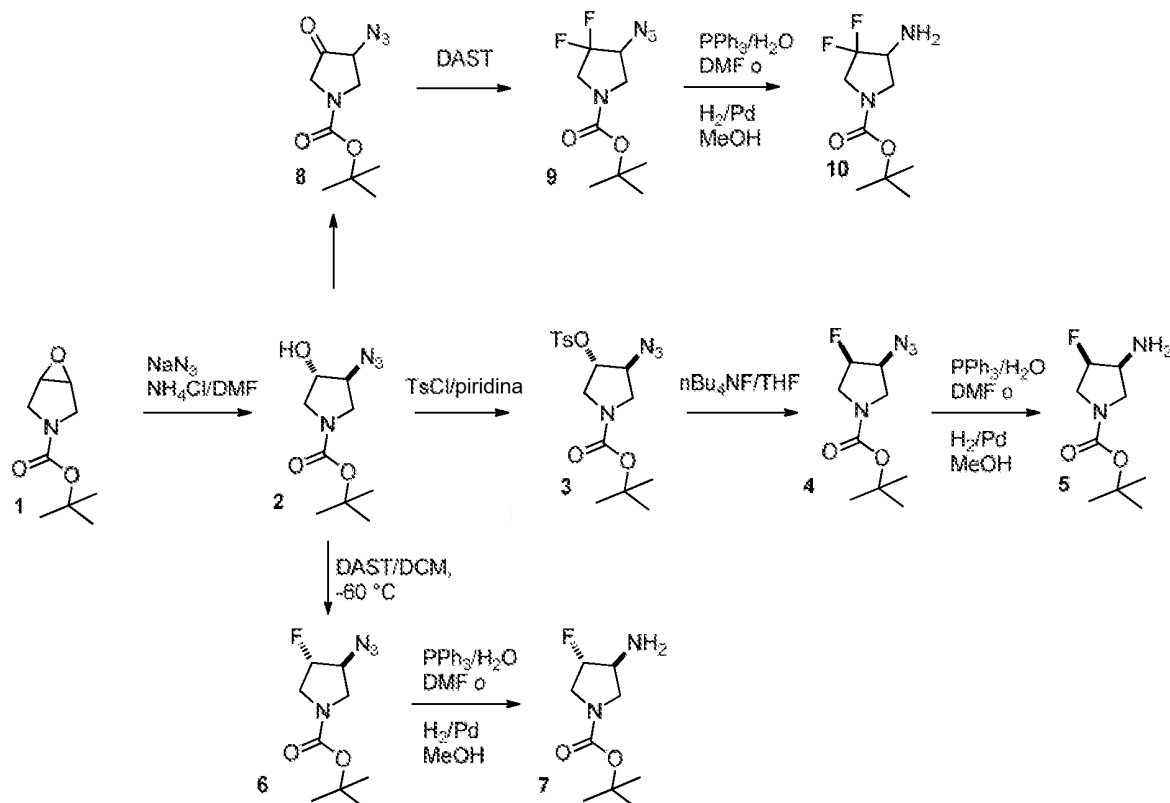
El 3-amino-4-fluoropirrolidin-1-carboxilato de *trans-terc*-butilo puede prepararse a partir de 3-azido-4-hidroxipirrolidin-1-carboxilato de *trans-terc*-butilo (J. Med. Chem. 2010, 53, 6730-6746) mediante fluoración usando un agente para fluoración adecuado tal como DAST en un disolvente apropiado tal como CH₂Cl₂ a una temperatura que varía de -78 °C a 0 °C, seguido de reducción del grupo azido a la amina correspondiente usando PPh₃/H₂O en un disolvente adecuado tal como THF a una temperatura de aproximadamente 60 °C, o hidrogenación usando un catalizador tal como Pd o PtO₂ en un disolvente adecuado tal como MeOH a t_a .

El 3-amino-4-fluoropirrolidin-1-carboxilato de *cis-terc*-butilo puede obtenerse mediante la utilización de la siguiente secuencia: 1) activación del grupo hidroxilo de 3-azido-4-hidroxipirrolidin-1-carboxilato de *trans-terc*-butilo, por ejemplo, por tosilación usando TsCl en piridina a una temperatura que varía de aproximadamente 5 °C a t_a ; 2) fluoración con un agente de fluoración adecuado tal como fluoruro de *n*-tributilamonio en un disolvente apropiado tal como THF a una temperatura que varía de t_a a aproximadamente 65 °C, y 3) reducción del grupo azido a la amina correspondiente usando PPh₃/H₂O en un disolvente adecuado tal como THF a una temperatura de aproximadamente 60 °C, o hidrogenación utilizando un catalizador tal como Pd o PtO₂ en un disolvente adecuado tal como MeOH a t_a .

El 4-amino-3,3-difluoropirrolidin-1-carboxilato de *terc*-butilo puede obtenerse en tres etapas de síntesis a partir de 3-azido-4-hidroxipirrolidin-1-carboxilato de *trans-terc*-butilo: 1) oxidación del grupo hidroxilo utilizando por ejemplo condiciones de Swern es decir, cloruro de oxalilo y DMSO en un disolvente adecuado tal como CH₂Cl₂ a una temperatura que varía de -78 °C a -60 °C, o utilizando peryodinato de Dess-Martin en un disolvente adecuado, tal como CH₂Cl₂ o THF a una temperatura que varía de 0 °C a t_a ; 2) fluoración usando un agente de fluoración

adecuado tal como DAST o Deoxofluor en un disolvente apropiado tal como CH_2Cl_2 a una temperatura que varía de 0°C a ta , y 3) reducción del grupo azido a la correspondiente amina usando $\text{PPh}_3/\text{H}_2\text{O}$ en un disolvente adecuado tal como THF a una temperatura de aproximadamente 60°C , o hidrogenación usando un catalizador tal como Pd o PtO_2 en un disolvente adecuado tal como MeOH a temperatura ambiente.

- 5 El 3-amino-4-fluoropirrolidin-1-carboxilato *trans-terc*-butilo enantiopuro, 3-amino-4-fluoropirrolidin-1-carboxilato de *cis-terc*-butilo, y 4-amino-3,3-difluoropirrolidin-1-carboxilato de *terc*-butilo pueden prepararse a partir de 3-azido-4-hidroxipirrolidin-1-carboxilato de *trans-terc*-butilo enantiopuro, que puede obtenerse a través de una reacción de apertura de anillo asimétrica del epóxido correspondiente usando, por ejemplo el catalizador Salen de Jacobsen (documento WO2006/114401). Dependiendo de la configuración del catalizador puede obtenerse uno o el otro enantiómero.



Esquema 1

Parte Experimental

Abreviaturas (tal como se utiliza en la presente memoria y en la descripción anterior)

15	Ac	acetilo
	ac.	acuoso
	Boc	<i>terc</i> -butoxicarbonilo
	pe	punto de ebullición
	(n-)Bu	butilo
	ca.	aproximadamente
20	EOCV	enfermedad obstructiva crónica de las vías respiratorias
	EOCP	enfermedad obstructiva crónica del pulmón
	EPOC	enfermedad pulmonar obstructiva crónica
	DAD	detector de matriz de diodos
	DAST	trifluoruro de (dietilamino)azufre
25	DCC	<i>N,N'</i> -diciclohexilcarbodiimida
	DCE	1,2-dicloroetano
	DEA	dietilamina
	DIPEA	diisopropiletilamina
	DMAP	4- <i>N,N</i> -dimetilaminopiridina
30	DMEM	medio de Eagle modificado por Dulbecco

	DMF	dimetilformamida
	DMSO	dimetilsulfóxido
	EA	acetato de etilo
	EC ₅₀	concentración eficaz semi máxima
5	EDC	<i>N</i> -(3-dimetilaminopropil)- <i>N</i> -etil-carbodiimida
	ELSD	detección de dispersión de luz evaporativa
	eq.	equivalente o equivalentes
	Et	etilo
	Éter o Et ₂ O	dietiléter
10	Et ₃ N	triethylamina
	EtOH	etanol
	FC	cromatografía en columna rápida sobre gel de sílice
	FLIPR	lector de placas de imágenes por fluorescencia
	FPRL1	receptor de formil-péptido tipo-1
15	FPRL2	receptor de formil-péptido tipo-2
	GSH	Glutati6n
	h	hora u horas
	HATU	hexafluorofosfato de 2-(7-aza-1 <i>H</i> -benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio
	HEPES	ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperacinetansulf6nico
20	hept	heptano
	VIH	virus de inmunodeficiencia humana
	HOBt	hidroxibenzotriazol
	HOAt	7-aza-1-hidroxibenzotriazol
	HPLC	cromatografía líquida de alta resoluci6n
25	i.p.	intraperitoneal
	i.v.	intravenoso
	LC-EM	cromatografía de líquidos - espectrometría de masas
	lem	longitud de onda de emisi6n
	lex	longitud de onda de excitaci6n
30	Me	metilo
	MeOH	metanol
	min	minuto o minutos
	mM	milimolar
	μM	micromolar
35	MS	espectrometría de masas
	nm	nan6metro
	nM	nanomolar
	RMN	resonancia magnética nuclear
	OAc	acetato
40	org.	orgánico/a
	<i>p</i>	<i>para</i>
	p.o.	por vía oral
	PyBOP	benzotriazol-1-il-oxi-tris-pirrolidin-fosfonio-hexafluoro-fosfato
	fr	factor de retenci6n
45	rpm	rotaci6n por minuto
	ta	temperatura ambiente
	sat.	Saturado/a
	s.c.	subcutáneo
	<i>t</i> -Bu	<i>terc</i> -butilo
50	TFA	ácido trifluoroacético
	THF	tetrahidrofurano
	TLC	cromatografía en capa fina
	TMS	trimetil-sililo
	<i>t</i> _R	tiempo de retenci6n
55	TsCl	cloruro de tosilo
	UI	Unidad International
	UV	ultravioleta
	Vis	visible

I Química

- 60 *General.* Todas las temperaturas se expresan en grados Celsius (°C). A menos que se indique lo contrario, las reacciones tienen lugar a ta.

La cromatografía analítica en capa fina (TLC) se realizó con placas de 0,2 mm: Merck, gel de sílice 60 F₂₅₄. La cromatografía preparativa en capa fina (TLC) se realizó con placas de 0,2 o 0,5 mm: Merck, gel de sílice 60 F₂₅₄. La

detección se realizó con UV o con una solución de KMnO_4 (3 g), K_2CO_3 (20 g), NaOH al 5 % (3 ml) y H_2O (300 ml) con posterior calentamiento.

La cromatografía en columna rápida (FC) y la filtración se realizaron usando *gel de sílice 60 Merck* (0,063-0,200 mm) o gel de sílice *Macherey-Nagel* (0,063-0,200 mm): elución con EA, Et_2O , hept, hexano, éter de petróleo, CH_2Cl_2 , CHCl_3 , MeOH, NH_4OH o mezclas de los mismos.

Condiciones LC-EM 02 (si no se indica lo contrario): Analítica: Thermo Finnigan MSQ Plus EM con bomba binaria Agilent 1100 y DAD. Columna: Zorbax SB-AQ 5 μm , 4,6x50 mm ID de Agilent Technologies. Eluyentes: A: H_2O + 0,04 % de TFA; B: CH_3CN ; gradiente: 5 % de B $\rightarrow$ 95 % de B durante 1 min. Flujo: 4,50 ml/min. Detección: UV/Vis y/o ELSD y EM, t_R se da en min.

10 Condiciones LC-EM 07 (si no se indica lo contrario): Analítica. Bomba: Dionex HPG-3200RS, EM: Thermo MSQ Plus, DAD: Dionex DAD-3000RS, ELSD: Sedere Sedex 85. Columna: XBridge C18 2.5 μm , 4,6x30 mm ID de Waters, termostatzado en el compartimento Dionex TCC-3200. Eluyentes: A: H_2O + 0,04 % de TFA; B: CH_3CN . Procedimiento: Gradiente: 5 % de B $\rightarrow$ 95 % de B durante 1,00 min. Flujo: 4,5 ml/min. Detección: UV/Vis y/o ELSD, y EM, t_R se da en min.

15 Condiciones LC-EM 08 (si no se indica lo contrario): Analítica. Bomba: Dionex HPG-3200RS, EM: Thermo MSQ Plus, DAD: Dionex DAD-3000RS, ELSD: Sedere Sedex 85. Columna: Zorbax SB-AQ 3,5 μm , 4,6x50 mm ID de Agilent Technologies, termostatzado en el compartimento Dionex TCC-3200. Eluyentes: A: H_2O + 0,04 % TFA; B: CH_3CN . Procedimiento: Gradiente: 5 % de B $\rightarrow$ 95 % de B durante 1,00 min. Flujo: 4,5 ml/min. Detección: UV/Vis y/o ELSD, y EM, t_R se da en min.

20 Condiciones LC-EM 09 (si no se indica lo contrario): Analítica. Bomba: Agilent G1312A, EM: Thermo MSQ Plus, DAD: Agilent G1315A, ELSD: Sedere Sedex 85. Columna: Waters XBridge C18 5 μm , 4,6x50 mm, eluyentes: A: agua/ NH_3 [$c(\text{NH}_3)$ = 13 mmol/l]; B: CH_3CN , Eluyente de tratamiento: Tampón, $c(\text{NH}_4\text{HCOO})$ = 10 mmol/l. Procedimiento: Gradiente: 5 % de B $\rightarrow$ 95 % de B durante 0,75 min. Flujo: 4,5 ml/min. Detección: UV/Vis y/o ELSD, y EM, t_R se da en min.

25 Condiciones LC-EM 10 (si no se indica lo contrario): Analítica. Bomba: Agilent _G4220A_, EM: Thermo MSQ Plus, DAD: Agilent _G4212A_, ELSD: Sedere Sedex 90. Columna: Zorbax SB-AQ 3,5 μm , 4,6x50 mm ID de Agilent Technologies, termostatzado en el compartimento Dionex TCC-3200. Eluyentes: A: H_2O + 0,04 % de TFA; B: CH_3CN . Eluyente de Tratamiento: $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ 7:3 a 0,250 ml/min. Procedimiento: Gradiente: 5 % de B $\rightarrow$ 95 % de B durante 1,07 min. Flujo: 4,5 ml/min. Detección: UV/Vis y/o ELSD, y EM, t_R se da en min.

30 HPLC preparativa: X-Bridge C18 5 μm , ID 50X19 mm de Waters. Eluyentes: A: H_2O + 0,5 % de NH_4OH ; B: CH_3CN ; Gradiente: 10 % de B $\rightarrow$ 90 % de B durante 5 min. Flujo: 40,0 ml/min. Detección: UV/Vis y/o ELSD, y MS, t_R se da en min.

HPLC quirál, analítica: (R,R) Whelk-O1 250x4,6 mm ID, 5 μm . Eluyente A (80 %): Heptano + 0,05 % de DEA. Eluyente B (20 %): Etanol + 0,05 % de DEA. Flujo: 0,8 ml/min. Detección: UV/Vis, t_R se da en min.

35 RMN: *BrukerAvance 400* (400 MHz); *Varian Mercury 300* (300 MHz), los desplazamientos químicos se proporcionan en ppm en relación con el disolvente usado; multiplicidades: s = singlete, d = doblete, t = triplete, q = cuádruplete, p = pentuplete, hex = hexete, hept = hepteto, m = múltiplete, a = ancho, las constantes de acoplamiento se proporcionan en Hz.

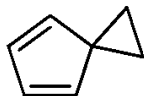
Los siguientes ejemplos ilustran la presente invención pero no limitan en absoluto el ámbito de la misma.

40 Procedimiento General A: Acoplamiento de Amida:

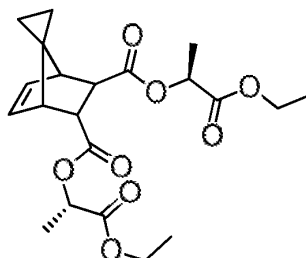
En un matraz de fondo redondo secado a la llama, equipado con una barra agitadora magnética y en atmósfera inerte (N_2), a una solución del ácido carboxílico (1,0 eq.) en CH_2Cl_2 (0,2 M) se añadió una amina (1,0-2,0 eq.), EDC HCl (2,0-4,0 eq.), HOBt (1,2 a 2,4 eq.) y DIPEA (3,0-6,0 eq.). La mezcla de reacción se agitó a ta hasta la finalización de la reacción. Después se añadió agua, se separaron las capas y la capa orgánica se secó sobre MgSO_4 , se filtró y se concentró a presión reducida. La purificación del residuo, cuando fue necesario, mediante FC o HPLC dio el compuesto deseado.

Procedimiento General B: Desprotección de Boc

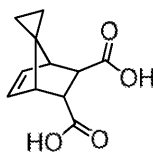
50 En un vial de vidrio, en atmósfera inerte (N_2), una solución de la amina protegida con Boc (1,0 eq.) en CH_2Cl_2 se trató con HCl 4 N en dioxano (10,0 eq.) y la mezcla de reacción se agitó a 0 °C o temperatura ambiente hasta la finalización de la reacción. La mezcla se alcalinizó con NaOH ac. 1 M y el compuesto se extrajo con EA. Los extractos orgánicos se secaron sobre MgSO_4 , se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó, cuando fue necesario, mediante FC o HPLC para dar el compuesto deseado.

Síntesis de Intermedios:**Espiro[2.4]hepta-4,6-dieno:**

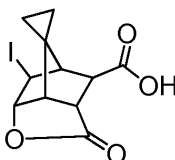
En un matraz de fondo redondo secado a la llama, equipado con una barra magnética y en atmósfera inerte (N_2), una mezcla de cloruro de benciltriethylamonio (18,0 g, 78 mmol) en solución acuosa de NaOH al 50 % (1,2 l) se calentó a 45 °C. Una solución enfriada de ciclopentadieno (formado por craqueo de dímero de ciclopentadieno a 180 °C, 140 ml, 1,70 moles) en 1,2-dicloroetano (122 ml, 1,55 moles) se añadió a la solución de NaOH agitada mientras se mantenía la temperatura interna por debajo de 55 °C. Después de la terminación de la adición (aprox. 1,75 h), la mezcla de reacción se agitó a 50 °C durante 2 h y se dejó enfriar hasta t.a. Las capas se separaron, la capa orgánica se lavó con NaOH 1 M, se secó (Na_2SO_4) y se filtró. El líquido bruto de color marrón se destiló a presión reducida (8,5-9,5 kPa) y el compuesto del título se obtuvo como un líquido incoloro (pe = 45-50 °C a 8,0 kPa). RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 6,58 (m, 2H), 6,19 (m, 2H), 1,71 (s, 4H).

Reacción de Diels Alder - formación de (5R,6R)-5,6-bis-[(1-(1S)-etoxicarbonil)-etoxi-carbonil]-(4S,7R)-[4,7-etenilen-espiro[2.4]heptano]:

En un matraz de fondo redondo secado a la llama equipado con una barra magnética y en atmósfera inerte (N_2), a una solución de (E)-1,2-bis-[(1-(1S)-1-etoxicarbonil)-etoxi-carbonil]-eteno (7,40 g, 22,7 mmol) en n-hexano (76 ml) se añadió espiro [2.4] hepta-4,6-dieno (3,14 g, 34,0 mmol) a t.a. La mezcla de reacción se agitó a esta temperatura durante la noche. La mezcla se concentró a presión reducida y el residuo bruto se purificó mediante FC (heptano/EA, 9:1). El compuesto del título se obtuvo como un aceite amarillo pálido. TLC: fr (hept/EA, 9:1) = 0,25. Condiciones LC-EM-02: t_R = 1,12 min; $[M+H]^+$ = 409,00, NMR 1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 6,44 (dd, J = 5,5, 3,0 Hz, 1 H), 6,32 (dd, J = 5,5, 2,8 Hz, 1 H), 5,12 (q, J = 7,1 Hz, 1 H), 5,06 (q, J = 7,1 Hz, 1 H), 4,28-4,14 (m, 4 H), 3,76 (app, t, J = 4,0 Hz, 1 H), 2,92 (d, J = 4,8 Hz, 1 H), 2,86 (m, 1 H), 2,80 (m, 1 H), 1,55-1,47 (m, 6 H), 1,29 (t, J = 7,3 Hz, 3 H), 1,29 (t, J = 7,3 Hz, 3 H), 0,70 (m, 1 H), 0,56-0,44 (m, 3 H).

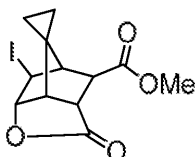
Saponificación - formación del ácido (4S,7R)-[4,7-etenilen-espiro[2.4]heptano]-(5R,6R)-5,6-bis-carboxílico:

A una solución de (5R,6R)-5,6-bis-[(1-(1S)-etoxicarbonil)-etoxi-carbonil]-(4S,7R)-[4,7-etenilen-espiro[2.4]heptano] (9,51 g, 23,28 mmol) en THF/ H_2O (1:1, 232 ml) se le añadió LiOH (3,91 g, 93,13 mmol). La mezcla de reacción se agitó a t.a durante una noche. Se añadió HCl 1 N con el fin de ajustar el pH de la mezcla de reacción a pH = 3, se separaron las capas y la capa ac. se extrajo con EA (3x). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre $MgSO_4$, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo bruto se purificó mediante FC (CH_2Cl_2 /MeOH, 9:1) para dar el compuesto del título en forma de un aceite incoloro. TLC: fr (CH_2Cl_2 /MeOH, 9:1) = 0,31. Condiciones LC-EM 02: t_R = 0,72 min; $[M+CH_3CN+H]^+$ = 250,18.

Yodolactonización - formación del ácido 6-yodo-2-oxohexahidroespiro[3,5-metanociclopenta[b]furan-4,1'-ciclopropan]-7-carboxílico:

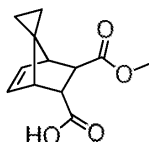
- 5 A una solución del ácido (4*S*,7*R*)-[4,7-etenileno-espiro [2.4]heptano]-(5*R*,6*R*)-5,6-bis-carboxílico (5,60 g, 22,32 mmol) en CH₂Cl₂ (33 ml) se añadió NaHCO₃ (2,06 g, 24,56 mmol), agua (100 ml), KI (1,37 g, 82,60 mmol) e I₂ (6,80 g, 26,79 mmol). La mezcla de reacción se agitó a ta durante 3 h. La reacción se inactivó mediante la adición de solución sat. ac. de Na₂S₂O₃. Las capas se separaron y la capa ac. se extrajo con CH₂Cl₂ (3x). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron a presión reducida. La espuma bruta se purificó mediante FC (EA) para dar el compuesto del título como un sólido blanco. TLC: fr (EA) = 0,33.

Esterificación - formación de 6-yodo-2-oxohexahidroespiro[3,5-metanciclopenta[b]furan-4,1'-ciclopropan]-7-carboxilato de metilo:



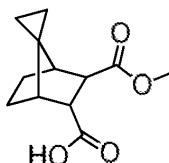
- 10 En un matraz de fondo redondo secado a la llama, equipado con una barra magnética y en atmósfera inerte (N₂), a una solución de ácido 6-yodo-2-oxohexahidroespiro[3,5-metanociclopenta[b]furan-4,1'-ciclopropan]-7-carboxílico (5,00 g, 14,96 mmol) en MeOH seco (75 ml) se añadió TMSCH₂N₂ (2,0 M en hexanos, 37,0 ml, 74,83 mmol). La mezcla de reacción se agitó a ta durante la noche, se concentró a presión reducida y se purificó mediante FC (heptano/EA, 4:1) para dar el compuesto del título como un sólido blanco. TLC: fr (heptano/EA, 4:1) = 0,18.

- 15 **Retro-yodolactonización - formación del ácido (6*R*)-6-metoxicarbonil-(4*S*,7*R*)-[4,7-etenileno-espiro[2.4]heptano]-(5*R*)-5-carboxílico:**



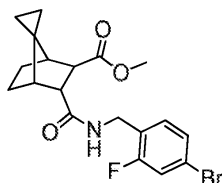
- 20 En un matraz de fondo redondo secado a la llama, equipado con una barra magnética y en atmósfera inerte (N₂), a una solución de 6-yodo-2-oxohexahidroespiro[3,5-metanociclopenta[b]furan-4,1'-ciclopropan]-7-carboxilato de metilo (2,86 g, 8,21 mmol) en ácido acético (29 ml) se añadió polvo de zinc (8,06 g, 123,23 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 65 °C durante 4 h, se enfrió a ta, se filtró y se repartió entre agua y EA. Las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con EA (3x). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo en bruto se purificó mediante FC (heptano/EA, 1:1) y el compuesto del título se obtuvo como un aceite incoloro. TLC: fr (heptano/EA, 1:1) = 0,41.

- 25 **Reducción del doble enlace - formación del ácido (6*R*)-6-metoxicarbonil-(4*S*,7*R*)-[4,7-etilen-espiro[2.4]heptano]-(5*R*)-5-carboxílico:**



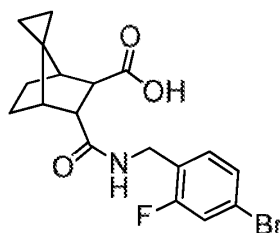
- 30 En un matraz de fondo redondo secado a la llama, equipado con una barra magnética y en atmósfera inerte (N₂), una suspensión desoxigenada del ácido (6*R*)-6-metoxicarbonil-(4*S*,7*R*)-[4,7-etenileno-espiro[2.4]heptano]-(5*R*)-5-carboxílico (220 mg, 0,99 mmol), Pd/C al 10 % (44 mg) y ciclohexeno (0,20 ml, 1,98 mmol) en THF seco (2,5 ml) se agitó a reflujo durante 2 h. La mezcla de reacción se filtró a través de celite y la torta de filtro se lavó con THF. El filtrado se concentró a presión reducida y el compuesto del título se obtuvo como un sólido blanco. TLC: fr (heptano/EA, 2:3) = 0,48.

- 35 **Acoplamiento de amida con 4-bromo-2-fluorobencilamina - formación de (5*R*)-*N*⁵-(4-bromo-2-fluorofenil-metil)-(6*R*)-6-metoxicarbonil-(4*S*,7*R*)-[4,7-etilen-espiro[2.4]heptano]-5-carboxamida:**



En un matraz de fondo redondo secado a la llama, equipado con una barra magnética y en atmósfera inerte (N_2), a una solución del ácido (6*R*)-6-metoxycarbonil-(4*S*,7*R*)-[4,7-etilen-espiro[2.4]heptano]-(5*R*)-5-carboxílico (5,00 g, 22,30 mmol) en CH_2Cl_2 seco (35 ml) se añadieron 3 gotas de DMF y cloruro de oxalilo (2,25 ml, 25,50 mmol). La mezcla de reacción se agitó a ta durante 60 minutos y se concentró a presión reducida. A una suspensión de clorhidrato de 4-bromo-2-fluorobencilamina (5,42 g, 22,30 mmol) en piridina (5,40 ml) se añadió una solución del cloruro de acilo en acetona (35 ml). La mezcla de reacción se agitó a ta durante 1 h, se diluyó con EA y se lavó sucesivamente con HCl ac. 1 N, $NaHCO_3$ sat. ac. y salmuera. La capa org. se secó sobre $MgSO_4$, se filtró, y se concentró a presión reducida para proporcionar el compuesto del título obtenido como un aceite amarillo. Condiciones de LC-EM 08: $t_R = 0,94$ min; $[M + H]^+ = 409,84$.

10 **(5*R*)-*N*⁵-(4-Bromo-2-fluorofenil-metil)-(6*R*)-6-hidroxycarbonil-(4*S*,7*R*)-[4,7-etilen-espiro[2.4]heptano]-5-carboxamida (documento WO2010/134014):**



15 A una solución de (5*R*)-*N*⁵-(4-bromo-2-fluorofenil-metil)-(6*R*)-6-metoxycarbonil-(4*S*,7*R*)-[4,7-etilen-espiro[2.4]heptano]-5-carboxamida (5,70 g, 13,90 mmol) en THF (100 ml) se añadió NaOH ac. 2 N (31,00 ml, 62,00 mmol). La mezcla de reacción se agitó a ta hasta la finalización de la reacción. Después, la mezcla se vertió en HCl ac. 1 N y se extrajo con EA (3x). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre $MgSO_4$, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar el compuesto del título en forma de una espuma de color blanco. Condiciones de LC-EM 08: $t_R = 0,85$ min; $[M + H]^+ = 395,77$.

1-Bencil-3,3-difluoropiperidin-4-ol:

20 En un matraz de fondo redondo secado a la llama equipado con una barra de agitación magnética y en atmósfera inerte (N_2), a una solución de 1-bencil-3,3-difluoropiperidin-4,4-diol (documento WO2008/121687 y documento WO2005/040120) (2,88 g, 11,85 mmol) en MeOH seco (58 ml) se añadió $NaBH_4$ (672 mg, 17,76 mmol) en porciones a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 15 min. A continuación se añadió $NaHCO_3$ ac 0,1 M (5 ml) y la mezcla se agitó adicionalmente durante 5 min, se secó ($MgSO_4$), se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo bruto se purificó mediante FC (heptano/EA, 2:1 -> 1:1) y el compuesto del título se obtuvo como un aceite beis. Condiciones de LC-EM 08: $t_R = 0,42$ min; $[M+H]^+ = 228,32$.

3,3-Difluoropiperidin-4-ol:

30 En un matraz de fondo redondo secado a la llama equipado con una barra de agitación magnética, una suspensión de 1-bencil-3,3-difluoropiperidin-4-ol (1,73 g, 7,62 mmol) y $Pd(OH)_2$ (20 % de Pd, 107 mg) en EtOH seco (50 ml) se agitó a ta a una presión atmosférica de H_2 hasta la finalización de la reacción. Después, la mezcla se filtró, se lavó con EA/EtOH, y el filtrado se concentró a presión reducida para dar el compuesto del título como un sólido beis. Condiciones de LC-EM 08: $t_R = 0,15$ min; $[M+H]^+ = 138,27$.

3,3-Difluoro-4-hidroxipiperidin-1-carboxilato de *tert*-butilo:

35 En un matraz de fondo redondo secado a la llama equipado con una barra de agitación magnética y en atmósfera inerte (N_2), a una solución de 3,3-difluoropiperidin-4-ol (700 mg, 5,10 mmol) en CH_2Cl_2 seco (50 ml) se añadió Boc_2O (1,11 g, 5,10 mmol). La mezcla de reacción se agitó a ta durante 2 h. Después se añadió agua, se separaron las capas y la capa ac. se extrajo con CH_2Cl_2 (3x). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre $MgSO_4$, se filtraron, y se concentraron a presión reducida para proporcionar el compuesto del título como un sólido amarillo. Condiciones de LC-EM 08: $t_R = 0,69$ min; $[M-CH_3+H]^+ = 223,30$.

40 **4-(Bencilamino)-3,3-difluoropiperidin-1-carboxilato de *tert*-butilo:**

45 En un matraz de fondo redondo secado a la llama equipado con una barra de agitación magnética y en atmósfera inerte (N_2), a una solución enfriada con hielo de 3,3-difluoro-4-hidroxipiperidin-1-carboxilato de *tert*-butilo (2,40 g, 10,00 mmol) en CH_2Cl_2 seco (50 ml) se añadió una solución de peryodinato de Dess-Martin (50 ml de una solución al 15 % en CH_2Cl_2 , 24,00 mmol). La mezcla de reacción se agitó a ta hasta la finalización de la reacción. Después se añadió $NaHCO_3$ ac. sat. (50 ml), seguido de Na_2SO_3 al 10 % acuoso (50 ml). La mezcla se agitó a ta durante 1 h, se separaron las capas y la capa ac. se extrajo con CH_2Cl_2 (3x). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre $MgSO_4$, se filtraron, y se concentraron a presión reducida. El residuo bruto se disolvió nuevamente en CH_2Cl_2 (30 ml) y se agitó en presencia de tamices moleculares durante 24 h, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar el 3,3-difluoro-4-oxopiperidin-1-carboxilato de *tert*-butilo como un sólido amarillo.

A una solución de 3,3-difluoro-4-oxopiperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (0,250 g, 1,06 mmol) en CH₂Cl₂ (4,5 ml) se añadió bencilamina (0,13 ml, 1,17 mmol) y triacetoxiborohidruro de sodio (0,356 g, 1,59 mmol) y la solución se agitó a ta durante 22 h. La mezcla de reacción se trató con solución sat. ac. de Na₂CO₃ y se extrajo con EA (3 x 50 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y el disolvente se eliminó a presión reducida. El residuo se purificó mediante FC (heptano/EA, 1:1) para proporcionar el 4-(bencilamino)-3,3-difluoropiperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo. Condiciones de LC-EM 08: t_R = 0,65 min; [M+H]⁺ = 327,32.

4-Amino-3,3-difluoropiperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo:

En un matraz de fondo redondo secado a la llama equipado con una barra de agitación magnética y en atmósfera inerte (N₂), se disolvió 4-(bencilamino)-3,3-difluoropiperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (0,186 g, 0,57 mmol) en MeOH (5 ml) y se añadió Pd/C húmedo al 10 % (50 mg). El matraz se purgó con gas H₂ y la mezcla de reacción se agitó bajo una atmósfera de H₂ durante 2 h a ta. La mezcla de reacción se filtró sobre celite y la torta se lavó con MeOH y EA. El filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar el 4-amino-3,3-difluoropiperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo en forma de un aceite incoloro. Condiciones de LC-EM 08: t_R = 0,49 min; [M-CH₃+H]⁺ = 222,32.

3-Fluoro-4-oxopiperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo:

En un matraz de fondo redondo secado a la llama equipado con una barra de agitación magnética y en atmósfera inerte (N₂), a una solución de 4-oxopiperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (5,00 g, 25,09 mmol) en DMF seco (25 ml) se añadió cloruro de trimetilsililo (5,77 ml, 45,17 mmol) seguido de Et₃N (8,38 ml, 60,23 mmol) a ta. La mezcla de reacción se agitó a 80 °C durante 24 h. Después, la mezcla se enfrió a ta, se diluyó con hexanos y se lavó con solución sat. ac. de NaHCO₃. Las capas se separaron y la capa orgánica se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante FC (hexanos/EA, 9:1) para proporcionar el 4-((trimetilsilil)oxi)-5,6-dihidropiridin-1(2H)-carboxilato de *terc*-butilo en forma de un aceite incoloro. Fr (hexanos/EA, 9:1) = 0,50.

En un matraz de fondo redondo secado a la llama equipado con una barra de agitación magnética y en atmósfera inerte (N₂), a una solución de 4-((trimetilsilil)oxi)-5,6-dihidropiridin-1(2H)-carboxilato de *terc*-butilo (5,00 g, 18,40 mmol) en acetonitrilo seco (25 ml) se añadió Selectfluor® (7,55 g, 20,3 mmol) a ta. La mezcla de reacción se agitó a ta durante 2 h, después se vertió en EA y se lavó sucesivamente con NaHCO₃ ac. al 1 % y salmuera. La capa orgánica se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante FC (hexanos/EA, 4:1) para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo pálido. Condiciones de LC-EM 08: t_R = 0,55 min; [M-CH₃+H]⁺ = 203,23; TLC: fr (hexanos/EA, 4:1) = 0,17.

4-Amino-3-fluoropiperidin-1-carboxilato de *trans-terc*-butilo y 4-amino-3-fluoropiperidin-1-carboxilato de *cis-terc*-butilo:

En un matraz de fondo redondo secado a la llama equipado con una barra de agitación magnética y en atmósfera inerte (N₂), a una solución de 3-fluoro-4-oxopiperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (0,80 g, 3,68 mmol) en MeOH (10 ml) se añadió acetato de amonio (1,99 g, 25,80 mmol) y la solución resultante se agitó a ta durante 2 h. Después se añadió NaCNBH₃ (0,29 g, 4,42 mmol) y la solución se agitó a ta durante la noche. La mezcla de reacción se concentró hasta sequedad y los extractos orgánicos se extrajeron con EA a partir de una solución ac. al 1 % de Na₂CO₃. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó con FC (CH₂Cl₂/MeOH, 9:1) para proporcionar 4-amino-3-fluoropiperidin-1-carboxilato de *trans-terc*-butilo y 4-amino-3-fluoropiperidin-1-carboxilato de *cis-terc*-butilo ambos como aceites incoloros que solidificaron al dejarlo en reposo. Condiciones de LC-EM 08: t_R = 0,48 min; [M-CH₃+H]⁺ = 204,25 y t_R = 0,46; [M+H]⁺ = 219,26; TLC: fr (CH₂Cl₂/MeOH, 9:1) = 0,30 y 0,09.

3-Azido-4-fluoropirrolidin-1-carboxilato de *trans-terc*-butilo:

En un matraz de fondo redondo secado a la llama equipado con una barra de agitación magnética y en atmósfera inerte (N₂), a una solución de 3-azido-4-hidroxipirrolidin-1-carboxilato de *trans-terc*-butilo (J. Med. Chem. 2010, 53, 6730-6746) (288 mg, 1,26 mmol) en CH₂Cl₂ (1,1 ml) se añadió gota a gota una solución de DAST (0,345 ml, 2,61 mmol) en CH₂Cl₂ (1,1 ml) a -78 °C. Después de agitarse durante 2 horas a -60 °C, la mezcla de reacción se calentó hasta 0 °C, se vertió en Na₂CO₃ ac. al 10 % y se extrajo con CH₂Cl₂. La capa orgánica se separó, se lavó con agua, se secó sobre MgSO₄ y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó con FC (heptano/EA, 9,5:0,5 -> 7:3) para proporcionar 3-azido-4-fluoropirrolidin-1-carboxilato de *trans-terc*-butilo en forma de un aceite de color amarillo. TLC: rf (Hept/EA, 7:3) = 0,53.

3-Amino-4-fluoropirrolidin-1-carboxilato de *trans-terc*-butilo:

En un matraz de fondo redondo equipado con una barra de agitación magnética y un condensador de reflujo, a una solución de 3-azido-4-fluoropirrolidin-1-carboxilato de *trans-terc*-butilo (45 mg, 0,195 mmol) en THF (2,5 ml) se añadió PPh₃ en poliestireno (1,6 mmol/g, 120 mg, 0,193 mmol) y agua (0,15 ml). La mezcla de reacción se agitó a 60 °C durante 2 h. Después, la mezcla se filtró y el filtrado se secó sobre MgSO₄ y se filtró. El disolvente se retiró a presión reducida para proporcionar 3-amino-4-fluoropirrolidin-1-carboxilato de *trans-terc*-butilo como un aceite

amarillo pálido. Condiciones de LC-EM 10: $t_R = 0,48$ min; $[M-CH_3+H]^+ = 190,38$.

3-Azido-4-(tosiloxi)pirrolidin-1-carboxilato de *trans-terc*-butilo:

En un matraz de fondo redondo secado a la llama, equipado con una barra de agitación magnética y en atmósfera inerte (N_2), a una solución de 3-azido-4-hidroxipirrolidin-1-carboxilato de *trans-terc*-butilo (J. Med. Chem. 2010, 53, 6730-6746) (320 mg, 1,40 mmol) en piridina (3 ml) se añadió TsCl (588 mg, 3,00 mmol). La mezcla se agitó a 5 °C durante la noche. El disolvente se eliminó a presión reducida y la mezcla se repartió entre CH_2Cl_2 y $NaHCO_3$ ac. al 10 %. La capa orgánica se lavó con agua, se secó sobre $MgSO_4$, y el disolvente se eliminó a presión reducida. El residuo se purificó mediante FC (heptano/EA, 9,5:0,5 $\rightarrow$ 8:2) para proporcionar 3-azido-4-(tosiloxi)pirrolidin-1-carboxilato de *trans-terc*-butilo como un aceite incoloro. Condiciones de LC-EM 08: $t_R = 0,96$ min; $[M-CH_3+H]^+ = 368,10$. TLC: rf (Hept/EA, 8:2) = 0,22.

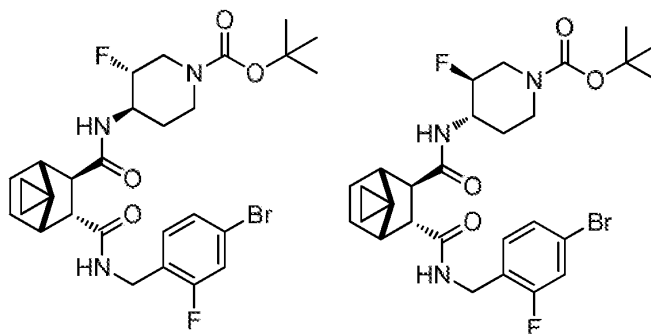
3-Azido-4-fluoropirrolidin-1-carboxilato de *cis-terc*-butilo:

En un matraz de fondo redondo secado a la llama equipado con una barra de agitación magnética, un condensador de reflujo y en atmósfera inerte (N_2), una solución de 3-azido-4-(tosiloxi)pirrolidin-1-carboxilato de *trans-terc*-butilo (438 mg, 1,15 mmol) en solución de fluoruro de tetra-*n*-butil-amonio 1 M en THF (7,00 ml, 7,00 mmol) se agitó a reflujo durante la noche. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida y el residuo se extrajo con CH_2Cl_2 , se lavó con agua, se secó sobre $MgSO_4$, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante FC (heptano/EA, 9:1 $\rightarrow$ 7:3) para proporcionar 3-azido-4-fluoropirrolidin-1-carboxilato de *cis-terc*-butilo en forma de un aceite incoloro. TLC: fr (Hept/EA, 7:3) = 0,33. Condiciones de LC-MS 08: $t_R = 0,81$ min; $[M-CH_3+H]^+ = 216,15$.

3-Amino-4-fluoropirrolidin-1-carboxilato de *cis-terc*-butilo:

En un matraz de fondo redondo equipado con una barra de agitación magnética y un condensador de reflujo, a una solución de 3-azido-4-fluoropirrolidin-1-carboxilato de *cis-terc*-butilo (86 mg, 0,374 mmol) en THF (5,5 mL) se añadió PPh_3 en poliestireno (1,6 mmol/g, 280 mg, 0,448 mmol) y agua (0,33 ml). La mezcla de reacción se agitó a 60 °C durante 2 h. Después, la mezcla se filtró y el filtrado se secó sobre $MgSO_4$ y se filtró. El disolvente se eliminó a presión reducida para proporcionar 3-amino-4-fluoropirrolidin-1-carboxilato de *cis-terc*-butilo como un aceite incoloro. Condiciones de LC-EM 10: $t_R = 0,45$ min; $[M-CH_3+H]^+ = 190,41$.

4-((1*S*,2*R*,3*R*,4*R*)-2-((4-bromo-2-fluorobencil)carbamoil)espiro[biciclo[2.2.1]heptan-7,1'-ciclopropan]-3-ilcarboxamido)-3,4-*trans*-fluoro piperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo:



Siguiendo el procedimiento general **A** a partir de (5*R*)- N^5 -(4-bromo-2-fluorofenil-metil)-(6*R*)-6-hidroxicarbonil-(4*S*,7*R*)-[4,7-etilen-espiro[2.4]heptan]-5-carboxamida y 4-amino-3-fluoropiperidin-1-carboxilato de *trans-terc*-butilo racémico. Los diastereómeros se separaron mediante FC (heptano/EA, 1:0 a 6:4). Primer diastereómero de elución: condiciones de LC-EM 08: $t_R = 0,98$ min; $[M+H]^+ = 596,26$; TLC: fr (Hept/EA, 6:4) = 0,22. Segundo diastereoisómero de elución: $t_R = 0,97$ min; $[M+H]^+ = 596,25$; TLC: fr (Hept/EA, 6:4) = 0,13.

Preparación de Ejemplos:

Ejemplo 1:

(1*S*,2*R*,3*R*,4*R*)- N^2 -(4-Bromo-2-fluorobencil)- N^3 -(3,3-difluoropiperidin-4-il)espiro[biciclo[2.2.1]heptan-7,1'-ciclopropan]-2,3-dicarboxamida:

Siguiendo los procedimientos generales **A** y **B**, a partir de (5*R*)- N^5 -(4-bromo-2-fluorofenil-metil)-(6*R*)-6-hidroxicarbonil-(4*S*,7*R*)-[4,7-etilen-espiro[2.4]heptan]-5-carboxamida y el 4-amino-3,3-difluoropiperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo racémico. Condiciones de LC-EM 08: $t_R = 0,71$ min; $[M+H]^+ = 514,26$.

Ejemplo 2:

(1S,2R,3R,4R)-N²-(4-Bromo-2-fluorobencil)-N³-(trans-3-fluoropiperidin-4-il)espiro[biciclo[2.2.1]heptan-7,1'-ciclopropan]-2,3-dicarboxamida (diastereoisómero 1):

5 Siguiendo el procedimiento general **B** a partir del primer diastereoisómero de elución 4-((1S,2R,3R,4R)-2-((4-bromo-2-fluorobencil)carbamoil)espiro[biciclo[2.2.1]heptan-7,1'-ciclopropan]-3-ilcarboxamido)-3,4-trans-fluoro piperidin-1-carboxilato de *tert*-butilo. Condiciones de LC-EM 08: t_R = 0,70 min; [M+H]⁺ = 496,24. HPLC quiral, analítica: t_R = 12,72 min.

Ejemplo 3:

10 **(1S,2R,3R,4R)-N²-(4-Bromo-2-fluorobencil)-N³-(trans-3-fluoropiperidin-4-il)espiro[biciclo[2.2.1]heptan-7,1'-ciclopropan]-2,3-dicarboxamida (diastereoisómero 2):**

Siguiendo el procedimiento general **B** a partir del segundo diastereoisómero de elución 4-((1S,2R,3R,4R)-2-((4-bromo-2-fluorobencil)carbamoil)espiro[biciclo[2.2.1]heptan-7,1'-ciclopropan]-3-ilcarboxamido)-3,4-trans-fluoro piperidin-1-carboxilato de *tert*-butilo. Condiciones de LC-EM 08: t_R = 0,69 min; [M+H]⁺ = 496,27. HPLC quiral, analítica: t_R = 10,58 min.

Ejemplo 4:

(1S,2R,3R,4R)-N²-(4-Bromo-2-fluorobencil)-N³-(cis-3-fluoropiperidin-4-il)espiro[biciclo[2.2.1]heptan-7,1'-ciclopropan]-2,3-dicarboxamida:

20 Siguiendo los procedimientos generales **A** y **B** a partir de (5R)-N⁵-(4-bromo-2-fluorofenil-metil)-(6R)-6-hidroxicarbonil-(4S,7R)-[4,7-etilen-espiro[2.4]heptano]-5-carboxamida y 4-amino-3-fluoropiperidin-1-carboxilato de *cis-tert*-butilo para proporcionar (1S,2R,3R,4R)-N²-(4-bromo-2-fluorobencil)-N³-(cis-3-fluoropiperidin-4-il)espiro[biciclo[2.2.1]heptan-7,1'-ciclopropan]-2,3-dicarboxamida como una mezcla de diastereoisómeros. Condiciones de LC-EM 09: t_R = 0,82 min; [M+H]⁺ = 495,98.

Ejemplo 5:

25 **(1S,2R,3R,4R)-N²-(4-Bromo-2-fluorobencil)-N³-(cis-4-fluoropirrolidin-3-il)espiro[biciclo[2.2.1]heptan-7,1'-ciclopropan]-2,3-dicarboxamida:**

30 Siguiendo los procedimientos generales **A** y **B** a partir de (5R)-N⁵-(4-bromo-2-fluorofenil-metil)-(6R)-6-hidroxicarbonil-(4S,7R)-[4,7-etilen-espiro[2.4]heptano]-5-carboxamida y 3-amino-4-fluoropirrolidin-1-carboxilato de *cis-tert*-butilo para proporcionar (1S,2R,3R,4R)-N²-(4-bromo-2-fluorobencil)-N³-(cis-4-fluoropirrolidin-3-il)espiro[biciclo[2.2.1]heptan-7,1'-ciclopropan]-2,3-dicarboxamida como una mezcla de diastereoisómeros. Condiciones de LC-EM 10: t_R = 0,70 min; [M+H]⁺ = 482,12.

Ejemplo 6:

(1S,2R,3R,4R)-N²-(4-Bromo-2-fluorobencil)-N³-(trans-4-fluoropirrolidin-3-il)espiro[biciclo[2.2.1]heptan-7,1'-ciclopropan]-2,3-dicarboxamida:

35 Siguiendo los procedimientos generales **A** y **B** a partir de (5R)-N⁵-(4-bromo-2-fluorofenil-metil)-(6R)-6-hidroxicarbonil-(4S,7R)-[4,7-etilen-espiro[2.4]heptano]-5-carboxamida y 3-amino-4-fluoropirrolidin-1-carboxilato de *trans-tert*-butilo para proporcionar (1S,2R,3R,4R)-N²-(4-bromo-2-fluorobencil)-N³-(trans-4-fluoropirrolidin-3-il)espiro[biciclo[2.2.1]heptan-7,1'-ciclopropan]-2,3-dicarboxamida como una mezcla de diastereoisómeros. Condiciones de LC-EM 10: t_R = 0,70 min; [M+H]⁺ = 482,12.

Preparación de los Ejemplos de Referencia:

40 **4-((1S,2R,3R,4R)-2-((4-bromo-2-fluorobencil)carbamoil)espiro [biciclo[2.2.1]heptan-7,1'-ciclopropan]-3-ilcarboxamido)piperidin-1-carboxilato de *tert*-butilo:**

45 Siguiendo el procedimiento general **A** a partir de (5R)-N⁵-(4-bromo-2-fluorofenil-metil)-(6R)-6-hidroxicarbonil-(4S,7R)-[4,7-etilen-espiro[2.4]heptano]-5-carboxamida y 4-aminopiperidin-1-carboxilato de *tert*-butilo. El residuo se purificó mediante FC (CH₂Cl₂/MeOH/NH₄OH, 98:2:0,5) para proporcionar 4-((1S,2R,3R,4R)-2-((4-bromo-2-fluorobencil)carbamoil)espiro[biciclo[2.2.1]heptan-7,1'-ciclopropan]-3-ilcarboxamido)piperidin-1-carboxilato de *tert*-butilo. Condiciones de LC-EM 07: t_R = 0,93 min; [M+H]⁺ = 577,55.

Ejemplo de Referencia 1:

Clorhidrato de (1S,2R,3R,4R)-N²-(4-Bromo-2-fluorobencil)-N³-(piperidin-4-il)espiro[biciclo[2.2.1]heptan-7,1'-ciclopropan]-2,3-dicarboxamida:

En un vial de vidrio, en atmósfera inerte (N₂), una solución de 4-((1S,2R,3R,4R)-2-((4-bromo-2-fluorobencil)carbamoil)espiro[biciclo[2.2.1]heptan-7,1'-ciclopropan]-3-ilcarboxamido)piperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (1,0 eq.) en CH₂Cl₂ se trató con HCl 4 N en dioxano (10,0 eq.) y la mezcla de reacción se agitó a 0 °C o ta hasta la finalización de la reacción. La mezcla de reacción después se concentró a presión reducida para proporcionar cloruro de 4-((1S,2R,3R,4R)-2-((4-bromo-2-fluorobencil)carbamoil)espiro[biciclo[2.2.1]heptan-7,1'-ciclopropan]-3-ilcarboxamido)piperidin-1-io. Condiciones de LC-MS 07: t_R = 0,65 min; [M+H]⁺ = 477,97.

Ejemplo de Referencia 2:

(1S,2R,3R,4R)-N²-(4-Bromo-2-fluorobencil)-N³-(piperidin-4-il)espiro[biciclo[2.2.1]heptan-7,1'-ciclopropan]-2,3-dicarboxamida:

Siguiendo los procedimientos generales **A** y **B** a partir de (5R)-N⁵-(4-bromo-2-fluorofenil-metil)-(6R)-6-hidroxicarbonil-(4S,7R)-[4,7-etilen-espiro[2.4]heptano]-5-carboxamida y 4-aminopiperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo para proporcionar (1S,2R,3R,4R)-N²-(4-bromo-2-fluorobencil)-N³-(piperidin-4-il)espiro[biciclo[2.2.1]heptan-7,1'-ciclopropan]-2,3-dicarboxamida. Condiciones de LC-MS 03: t_R = 1,12 min; [M+H]⁺ = 478,04.

II. Ensayos BiológicosEnsayo *In vitro*

Las actividades agonísticas del receptor de ALX de los compuestos de fórmula (I) se determinan de acuerdo con el siguiente procedimiento experimental.

Procedimiento Experimental:**Mediciones del calcio intracelular:**

Las células que expresan el receptor de ALX recombinante humano y la proteína G Gα16 (HEK293-hALXR-Gα16) se cultivaron a 80 % de confluencia en Medio de Crecimiento (GM). Las células se separaron de las placas de cultivo con un tampón de disociación celular (Invitrogen, 13151-014) y se recogieron mediante centrifugación a 1.000 rpm a ta durante 5 min en tampón de ensayo (AB) (partes iguales de BSS de Hank (Gibco, 14065-049) y DMEM sin rojo de fenol (Gibco, 11880-028)). Después de 60 min de incubación a 37 °C al 5 % de CO₂ en AB suplementado con 1 μM de Fluo-4 (AM) (Invitrogen, F14202) y HEPES 20 mM (Gibco, 15630-056), las células se lavaron y se resuspendieron en AB. Después se sembraron en placas de ensayo FLIPR de 384 pocillos (Greiner, 781091) a 50.000 células en 70 μl por pocillo y se sedimentaron mediante centrifugación a 1.000 rpm durante 1 min. Las soluciones madre de los compuestos de ensayo se prepararon a una concentración de 10 mM en DMSO y se diluyeron en serie en AB a las concentraciones requeridas para las curvas de respuesta a dosis de activación. Se utilizó WKYMVm (Phoenix Peptides) como un agonista de referencia. Un instrumento Tetra FLIPR (Molecular Devices) se manipuló de acuerdo con las instrucciones convencionales del fabricante, añadiendo 4 μl de compuesto de ensayo disuelto a 10 mM en DMSO y se diluyó antes del experimento en tampón de ensayo para obtener la concentración final deseada. Los cambios en la fluorescencia se monitorizaron antes y después de la adición de los compuestos de ensayo a lex = 488 nm y lem = 540 nm. Los valores máximos de emisión por encima del nivel base después de la adición de compuestos se exportaron después de la sustracción de la referencia. Los valores se normalizaron hasta control de alto nivel (compuesto WKYMVm, 10 nM de concentración final) después de la sustracción del valor de la referencia (adición de AB).

Las actividades agonistas con respecto al receptor de ALX (valores de EC₅₀) de los compuestos ejemplificados se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1

Compuesto	EC₅₀ [nM]
<i>Ejemplo 1:</i> (1S,2R,3R,4R)-N ² -(4-bromo-2-fluorobencil)-N ³ -(3,3-difluoropiperidin-4-il)espiro[biciclo[2.2.1]heptan-7,1'-ciclopropan]-2,3-dicarboxamida	41
<i>Ejemplo 2:</i> (1S,2R,3R,4R)-N ² -(4-bromo-2-fluorobencil)-N ³ -(trans-3-fluoropiperidin-4-il)espiro[biciclo[2.2.1]heptan-7,1'-ciclopropan]-2,3-dicarboxamida (diastereoisómero 1)	1,9
<i>Ejemplo 3:</i> (1S,2R,3R,4R)-N ² -(4-bromo-2-fluorobencil)-N ³ -(trans-3-fluoropiperidin-4-il)espiro[biciclo[2.2.1]heptan-7,1'-ciclopropan]-2,3-dicarboxamida (diastereoisómero 2)	2,0
<i>Ejemplo 4:</i> (1S,2R,3R,4R)-N ² -(4-bromo-2-fluorobencil)-N ³ -(cis-3-fluoropiperidin-4-il)espiro[biciclo[2.2.1]heptan-7,1'-ciclopropan]-2,3-dicarboxamida	12,7

(continuación)

Compuesto	EC₅₀ [nM]
<i>Ejemplo 5:</i> (1S,2R,3R,4R)-N ² -(4-Bromo-2-fluorobencil)-N ³ -(cis-4-fluoropirrolidin-3-il)espiro[biciclo[2.2.1]heptan-7,1'-ciclopropan]-2,3-dicarboxamida	300
<i>Ejemplo 6:</i> (1S,2R,3R,4R)-N ² -(4-Bromo-2-fluorobencil)-N ³ -(trans-4-fluoropirrolidin-3-il)espiro[biciclo[2.2.1]heptan-7,1'-ciclopropan]-2,3-dicarboxamida	4,5

Ensayo de adición de glutatión

A una solución de sustrato (0,05 mmol) en 0,5 ml de CH₃CN (0,5 ml) se añadió una solución de GSH (10,0-20,0 eq.) en 0,5 ml de tampón fosfato (0,1 M, pH 7,4). La solución turbia resultante se agitó a 40 °C durante 2 h y se analizó mediante LC-EM.

Ensayo de captura de dansilo-glutatión

Incubación *in vitro*

Los compuestos de ensayo se preincubaron generalmente a 10 μM en tampón fosfato potásico 0,1 M (pH 7,4) con 1 mg/ml de microsomas de hígado humano y 1 mM de GSH-dansilo durante 5 min a 37 °C en tubos protegidos de la luz. La reacción se inicia añadiendo un sistema de regeneración de NADPH. Después de 60 min, la reacción se paró añadiendo dos volúmenes de metanol enfriado con hielo con ditioneitol (DTT) 5 mM. Después de la centrifugación, los sobrenadantes se analizaron adicionalmente mediante HPLC con detección de fluorescencia. Los experimentos de control se realizan en presencia de GSH en lugar de dansilo-GSH con el fin de identificar los parentales fluorescentes y/o metabolitos como interferencia. Otro control se lleva a cabo en ausencia de fármaco principal para determinar las señales de fondo debido a la degradación/impurezas de dansilo-glutatión.

Analítica/cuantificación

Los sobrenadantes de las muestras incubadas se introducen en un sistema de HPLC Shimadzu con detector de fluorescencia (λ_{ex} 340, λ_{em} 525 nm) capaz de correr con presión más alta (60 MPa). La separación se lleva a cabo usando una columna de RP Cinética 4.6x100 mm (Phenomenex, 2.6 μm) a 1,5 ml/min. Se usa un gradiente completo con agua y acetonitrilo ambos acidificados con ácido fórmico al 0,1 %. Un volumen de 2 ml de acetonitrilo se agrega después de la columna para reducir la fluorescencia dependiente de disolvente. Los compuestos atrapados con dansilo-GSH se identifican a través de comparación visual de los cromatogramas de las incubaciones y las muestras de control. La cantidad de material atrapado se cuantifica mediante una calibración externa con concentraciones conocidas de dansilo-GSH y se expresa en nmol/l*h o pmol/ml*h.

Determinación de los parámetros farmacocinéticos

El objetivo del estudio fue evaluar la farmacocinética de los compuestos después de una sola administración oral o después de una vía intravenosa en ratas normales conscientes.

Descripción del procedimiento:

- **Anestesia:** Las ratas Wistar se pretrataron con 0,03 mg/kg de Buprenorfina s.c. (una solución madre analgésica a 0,03 mg/ml) y 30 minutos más tarde se anestesiaron con una mezcla de 90 mg/kg de ketamina y 10 mg/kg de xilazina i.p. o en anestesia por inhalación de isoflurano.
- **Preparación de la rata:** La parte superior de la cabeza y el cuello se afeitaron y se desinfectaron con Merfen y Betadine.
- **Cirugía:** Mientras estaban con anestesia (isoflurano), se realizó una incisión por encima de 1,5 cm en la parte superior de la cabeza (entre las orejas) con el fin de fijar el botón de ancla. Una segunda incisión se realizó por encima de 1,5-2 cm en el cuello (cerca de la clavícula derecha). Un catéter (ID/DI: 0,508 mm, Ulrich Swiss) se tunelizó con un trócar debajo de la piel y un puerto de acceso se fijó con seda 4-0. El catéter se llenó después con una solución salina heparinizada (100 UI/ml), se sujetó con una pinza hemostática para evitar la pérdida de solución salina y se cerró la herida con adhesivo tisular (Vetbond 3M). A continuación, la vena yugular se aisló y se ligó cranealmente con seda 4-0, una segunda ligadura se colocó caudal a la primera ligadura, sin apretar. Usando tijeras de iridectomía, se cortó un agujero en forma de V en la vena y el catéter se empujó suavemente en la vena. Todas las ligaduras se unieron después alrededor de la vena y los catéteres. Se realizó un enjuague de NaCl-heparina 100UI para probar el flujo sanguíneo. La herida se cerró después con adhesivo tisular y una sutura. Se enjuagó nuevamente.
- **Cuidado post operatorio:** Después de la operación cada animal se dejó separado en una pequeña caja con comida (directamente sobre el suelo de la caja) y agua a discreción y acceso a bebida sólida. Uno o dos días se dejaron para la recuperación de la cirugía antes del experimento. El día después de la operación, los animales se lavaron con NaCl-heparina 100 UI/ml y los tubos de recolección de sangre se prepararon con 10 μl de EDTA en cada tubo.
- **Experimento:** Los compuestos de ensayo se administraron a 1 mg/kg por vía oral y por vía intravenosa. La

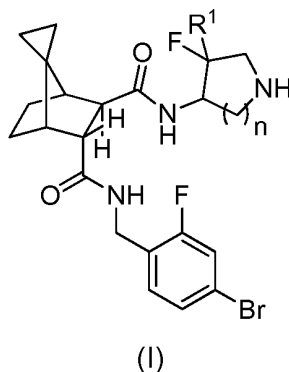
- 5 formulación oral fue como una solución en gelatina (98 % de una solución de gelatina al 7,5 % en agua y 2 % de DMSO) y la formulación intravenosa fue una solución en agua con ajuste de pH o en ciclodextrina (5 % de DMSO, 95 % de HPBCD30 % (p/v)). Después de la aplicación del compuesto de ensayo (p.o. o i.v.), las muestras de sangre (250 µl) se tomaron en diferentes momentos. Las muestras se colocaron inmediatamente en hielo antes de centrifugarse (4 °C, 8 minutos, 16000 g). El plasma después se aspiró y se colocó en una placa de 96 pocillos. La placa se mantuvo a -20 °C hasta que pudo realizarse el análisis.
- La concentración plasmática del compuesto se determinó usando un procedimiento LC-EM/EM.

Tabla 2: Datos farmacocinéticos (AUC: área bajo la curva después de la administración p.o., F: biodisponibilidad)

compuesto	administración	AUC [ng·h/ ml]	F ⁽¹⁾ [%]
(1S,2R,3R,4R)-N ² -(4-bromo-2-fluorobencil)-N ³ -(trans-3-fluoropiperidin-4-il)espiro[biciclo[2.2.1]heptan-7,1'-ciclopropan]-2,3-dicarboxamida (ejemplo 3)	p.o.: 1 mg/kg	49,9	12
(1S,2R,3R,4R)-N ² -(4-bromo-2-fluorobencil)-N ³ -(piperidin-4-il)espiro[biciclo[2.2.1]heptan-7,1'-ciclopropan]-2,3-dicarboxamida (ejemplo de referencia 2; el compuesto cae dentro de la fórmula I del documento WO2010/134014)	p.o.: 1 mg/kg	6,34	0,3
⁽¹⁾ F calculado con un AUC de referencia después de la administración iv de soluciones a 1 mg/kg.			

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I)



en la que

5 **n** representa 1 o 2; y
 R¹ representa hidrógeno o fluoro;
 o una sal de dicho compuesto.

2. Un compuesto de fórmula (I) de acuerdo con la reivindicación 1, en la que

10 **n** representa 1;
 o una sal de dicho compuesto.

3. Un compuesto de fórmula (I) de acuerdo con la reivindicación 1, en la que

n representa 2;
 o una sal de dicho compuesto.

4. Un compuesto de fórmula (I) de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que

15 **R¹** representa hidrógeno;
 o una sal de dicho compuesto.

5. Un compuesto de fórmula (I) de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que

R¹ representa fluoro; o una sal de dicho compuesto.

6. Un compuesto de fórmula (I) de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que

20 **R¹** representa hidrógeno y los dos centros estereogénicos en el grupo heterocíclico, que está unido al átomo de nitrógeno de la amida, se encuentran uno respecto al otro en la configuración *trans*; o una sal de dicho compuesto.

7. Un compuesto de fórmula (I) de acuerdo con la reivindicación 1, seleccionado del grupo que consiste en:

25 (1*S*,2*R*,3*R*,4*R*)-*N*²-(4-bromo-2-fluorobencil)-*N*³-((3*S*,4*S*)-3-fluoropiperidin-4-il)espiro[biciclo[2.2.1]heptan-7,1'-ciclopropan]-2,3-dicarboxamida;
 (1*S*,2*R*,3*R*,4*R*)-*N*²-(4-bromo-2-fluorobencil)-*N*³-((3*R*,4*R*)-3-fluoropiperidin-4-il)espiro[biciclo[2.2.1]heptan-7,1'-ciclopropan]-2,3-dicarboxamida;
 (1*S*,2*R*,3*R*,4*R*)-*N*²-(4-bromo-2-fluorobencil)-*N*³-(*cis*-3-fluoropiperidin-4-il)espiro[biciclo[2.2.1]heptan-7,1'-ciclopropan]-2,3-dicarboxamida;
 30 (1*S*,2*R*,3*R*,4*R*)-*N*²-(4-bromo-2-fluorobencil)-*N*³-(3,3-difluoropiperidin-4-il)espiro[biciclo[2.2.1]heptan-7,1'-ciclopropan]-2,3-dicarboxamida;
 (1*S*,2*R*,3*R*,4*R*)-*N*²-(4-Bromo-2-fluorobencil)-*N*³-(*cis*-4-fluoropirrolidin-3-il)espiro[biciclo[2.2.1]heptan-7,1'-ciclopropan]-2,3-dicarboxamida; y
 (1*S*,2*R*,3*R*,4*R*)-*N*²-(4-Bromo-2-fluorobencil)-*N*³-(*trans*-4-fluoropirrolidin-3-il)espiro[biciclo[2.2.1]heptan-7,1'-ciclopropan]-2,3-dicarboxamida;
 35 o una sal de dicho compuesto.

8. Un compuesto de fórmula (I) de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el compuesto es:

 (1*S*,2*R*,3*R*,4*R*)-*N*²-(4-bromo-2-fluorobencil)-*N*³-((3*S*,4*S*)-3-fluoropiperidin-4-il)espiro[biciclo[2.2.1]heptan-7,1'-ciclopropan]-2,3-dicarboxamida;

o una sal de dicho compuesto.

9. Un compuesto de fórmula (I) de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el compuesto es:

(1*S*,2*R*,3*R*,4*R*)-*N*²-(4-bromo-2-fluorobencil)-*N*³-((3*R*,4*R*)-3-fluoropiperidin-4-il)espiro[biciclo[2.2.1]heptan-7,1'-ciclopropan]-2,3-dicarboxamida;
o una sal de dicho compuesto.

10. Un compuesto de fórmula (I) de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el compuesto es:

(1*S*,2*R*,3*R*,4*R*)-*N*²-(4-bromo-2-fluorobencil)-*N*³-(*cis*-3-fluoropiperidin-4-il)espiro[biciclo[2.2.1]heptan-7,1'-ciclopropan]-2,3-dicarboxamida;
o una sal de dicho compuesto.

11. Un compuesto de fórmula (I) de acuerdo con la reivindicación 1, en la que el compuesto es:

(1*S*,2*R*,3*R*,4*R*)-*N*²-(4-Bromo-2-fluorobencil)-*N*³-(*trans*-4-fluoropirrolidin-3-il)espiro[biciclo[2.2.1]heptan-7,1'-ciclopropan]-2,3-dicarboxamida;
o una sal de dicho compuesto.

12. Un compuesto de fórmula (I) de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso como medicamento.

13. Una composición farmacéutica que contiene, como principio activo, un compuesto de fórmula (I) de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y al menos un excipiente terapéuticamente inerte.

14. Uso de un compuesto de fórmula (I) de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la fabricación de un medicamento para la prevención o el tratamiento de una enfermedad seleccionada de enfermedades inflamatorias, enfermedades obstructivas de las vías respiratorias, afecciones alérgicas, infecciones retrovíricas mediadas por el VIH, trastornos cardiovasculares, neuroinflamación, trastornos neurológicos, dolor, enfermedades mediadas por priones y trastornos mediados por amiloides; y para la modulación de respuestas inmunes.

15. Un compuesto de fórmula (I) de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en la prevención o tratamiento de una enfermedad seleccionada de enfermedades inflamatorias, enfermedades obstructivas de las vías respiratorias, afecciones alérgicas, infecciones retrovíricas mediadas por el VIH, trastornos cardiovasculares, neuroinflamación, trastornos neurológicos, dolor, enfermedades mediadas por priones y trastornos mediados por amiloides; y para la modulación de respuestas inmunes.